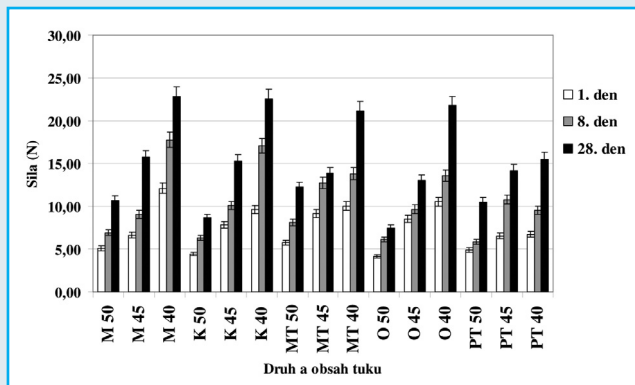


Graf č.1 Tvrdost modelových tavených sýrů s různým obsahem a typem tuku v závislosti na době skladování při 6 °C (1., 8. a 28. den). První písmeno udává použitý druh tuku (M - máslo, K - kokosový tuk, MT - mléčný tuk, O - směsný rostlinný polotuhý olej, PT - palmový tuk), číslo označuje obsah tuku v sušině (50, 45 a 40 % tuku v sušině).



kaseinové matrice (Schär a Bosset, (2002)⁷.

Dalším sledovaným parametrem byla relativní lepivost, kde byly nejvyšší hodnoty zjištěny ve vzorcích s obsahem tuku 50 % (w/w) a se snižujícím se obsahem TVS tyto hodnoty postupně klesaly. Snižování relativní lepivosti se zvyšující se pevností bílkovinné matrice je v souladu s údaji Dimitreli a Thomareis (2009)⁸. Relativní lepivost byla ovlivněna dobou skladování, kde se hodnoty s jejím nárůstem postupně snižovaly.

Analýzou obrazu jednotlivých vrstev všech vzorků byl zjištěn prakticky obdobný počet tukových kuliček, což lze považovat za marker jejich mikroskopické homogenity. Průměrná velikost (plocha) jedné tukové kuličky se ve vzorcích zmenšovala v závislosti na klesajícím obsahu TVS (tabulka 1). Cunha a kol. (2010)⁶ ve své studii potvrzují naše závěry, že vzorky s obsahem rostlinného tuku měly vyšší průměrnou velikost tukových kuliček. Zmínění autoři dávali tento trend do souvislosti s rostoucí tvrdostí matrice. Naše výsledky však ukázaly, že nárůst tvrdosti je spojen spíše se snižující se velikostí tukových kuliček, stejně jako to uvádí práce autorů Noronha a kol. (2008)⁹. V obalu mléčného tuku lze předpokládat minoritní obsah fosfolipidů, lipoproteinů či bílkovin, které mohou plnit funkci emulgátorů (Bylund, 1995)¹⁰, a tím se podílet na nejnižší průměrné velikosti tukových kuliček.

Tab. 1 Průměrná velikost tukové kuličky (μm^2) ve vzorcích modelových tavených sýrů vyrobených s použitím různých tuků

Tuk	Obsah tuku v sušině (% w/w)		
	40	45	50
M	11.5 ± 1.6	51.6 ± 5.5	149.6 ± 8.7
K	14.5 ± 1.6	79.2 ± 4.6	293.1 ± 9.6
MT	13.5 ± 1.5	69.1 ± 5.3	216.3 ± 10.9
O	15.9 ± 1.3	85.4 ± 4.5	274.7 ± 11.0
PT	16.1 ± 1.3	84.7 ± 8.2	315.3 ± 9.8

Závěr

Cílem práce bylo studovat texturní parametry modelových vzorků tavených sýrů a jejich analogů, kde byly použity kokosový, mléčný, palmový tuk a směsný rostlinný polotuhý olej. Kontrolní vzorky tavených sýrů byly vyrobeny za použití másla. Výsledky potvrdily, že tvrdost tavených sýrů a jejich analogů je významně ovlivněna obsahem tuku v sušině. Snižující se obsah tuku v sušině vedl ke zvýšení tvrdosti a naopak snížení relativní lepivosti. Tvrdost vzorků se však zvyšovala s rostoucí dobou skladování.

Poděkování:

Tato práce vznikla za podpory interního grantu UTB ve Zlíně č. IGA/18/FT/11/D financovaného z prostředků specifického vysokoškolského výzkumu.

Literatura:

- (1) FAGAN, C. C. a kol. (2007): *J Food Eng.*, 80, s. 1068 - 1077.
- (2) ČERNÍKOVÁ, M. a kol (2010): *Int Dairy J*, 20, s. 336-343.
- (3) NIELSEN, S. S.: (2010): *Food Analysis*. 4th ed. Springer New York.
- (4) LOBATO-CALLEROS, C., VERNON-CARTER, E. J. (1998): *J Texture Stud.*, 29, s.569 - 586.
- (5) JOHNSON, M. E. a kol. (2009): *Compr Rev Food Sci F.*, 8, s. 252 - 268.
- (6) CUNHA, C. R. a kol. (2010): *Food Res Int.*, 43, s. 723 - 729.
- (7) SCHÄR, W., BOSSET, J. O. (2002): *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 35, s. 15 - 20.
- (8) DIMITRELI, G., THOMAREIS, A. S.: (2009): *Int J Food Prop.* 12, s. 261 - 275.
- (9) NORONHA, N. a kol. (2008): *Eur Food Res Technik*, 226, s. 385 - 396.
- (10) BYLUND, G. (1995): *Dairy procesing handbook*. Lund: Tetra Pak Processing systems.

Přijato do tisku 5. 10. 2011

Lektorováno 25. 10. 2011

CHARAKTERISTIKA LAKTOBACILŮ IZOLOVANÝCH Z TRÁVICÍHO TRAKTU KOJENCŮ

Pavla Sedláčková, Šárka Horáčková, Milada Pločková
Ústav technologie mléka a tuků, Fakulta potravinářské a biochemické technologie, VŠCHT v Praze
pavla.sedlackova@vscht.cz

Characteristics of lactobacilli isolated from intestinal tract of fully breast-fed infants

Souhrn

Cílem práce bylo charakterizovat kmeny laktobacilů izolované z trávicího traktu plně kojených dětí a jejich vlastnosti porovnat s komerčním probiotickým kmenem *Lbc. acidophilus* LA-5 a sbírkovým kmenem *Lbc. acidophilus* CCDM 406. Mezi těmito kmeny byly nalezeny významné rozdíly a to především v růstu a kysacích aktivi-

tách v mléce, životaschopnosti v prostředí simulujícím trávicí trakt, schopnosti autoagregace a antimikrobiální aktivitě proti podmíněně patogenním mikroorganismům. Z výsledků vyplynulo, že izolát *Lbc. casei* ZU10 by mohl být vhodnou doplňkovou kulturou s probiotickými vlastnostmi. Nejlepší adhezi ke střevní stěně ze všech izolátů by měl mít kmen *Lbc. acidophilus* Z3 díky nejlepší schopnosti autoagregace a hydrofobicitě povrchu buněk. Ostatní kmeny v porovnání s vlastnostmi komerčního probiotického kmene a sbírkového kmene vykazovaly také probiotické vlastnosti ale v menším rozsahu.

Klíčová slova: probiotika, *Lactobacillus*, trávicí trakt, autoagregace, hydrofobicita, antimikrobiální aktivita

Abstract

The aim of this work was to characterize lactobacilli strains isolated from the digestive tract of fully breast-fed infants and to compare their properties with commercial probiotic strain *Lbc. acidophilus* LA-5 and collection strain *Lbc. acidophilus* CCDM 406. Significant differences were found among these strains, especially in the growth and acidifying activities in milk, viability in an environment simulating the digestive tract, the ability of autoaggregation, hydrophobicity and antimicrobial activity against potentially pathogenic microorganisms. The results showed that the isolate *Lbc. casei* ZU10 could be a suitable strain as an additional probiotic culture. The best adhesion to the intestinal tract should have *Lbc. acidophilus* Z3 due to its best ability of autoaggregation and high hydrophobicity of cell surface. Compared with commercial probiotic strain the studied strains also exhibited some probiotic properties.

Key words: probiotics, *Lactobacillus*, gastrointestinal tract tolerance, autoaggregation, hydrophobicity, antimicrobial activity

Úvod

Laktobacily se v potravinářství tradičně používají pro fermentaci mléka, masa, zeleniny a těst. V dnešní době se také hojně využívají pro přípravu probiotických preparátů, kde se vyskytují nejčastěji kmeny druhů *Lbc. acidophilus*, *Lbc. casei*, *Lbc. lactis*, *Lbc. reuteri*, *Lbc. plantarum*, *Lbc. fermentum*, *Lbc. brevis* a *Lbc. delbrueckii* (Maragkoudakis a kol., 2006). Probiotika jsou definována jako živé mikroorganismy, které při podání v určitém množství mají prospěšné účinky pro hostitele. Hlavními představiteli probiotik jsou bakterie mléčného kvašení (Iannitti a Palmieri, 2010). Probiotické kmeny používané nejen v potravinářském průmyslu, by měly být bezpečné pro člověka, izolované z trávicího traktu zdravého člověka, schopné adheze ke střevnímu epitelu, odolné žaludeční kyselině a žluči, aby se dostaly v životaschopné formě v dostatečném množství do trávicího traktu člověka. Ve střevech musí být schopni vyvolat pozitivní účinky na zdraví hostitele (Frič, 2005). Probiotika ovlivňují zdravotní stav člověka několika způsoby. Mohou působit svou vlastní přítomností, vytěsňo-

vat svým růstem patogenní mikroorganismy jako jsou *Helicobacter pylori*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Clostridium difficile* apod., a to např. soutěžením o živiny, adhezní místa na střevním epitelu, nebo tvorbou antimikrobiálních látek (např. bakteriocinů, peroxidu vodíku, organických kyselin a dalších) (Kohout, 2010). Důležitá vlastnost pro probiotika je schopnost adheze na střevní epitelové buňky a sliznici. Adheze je několika-stupňový proces, který není zcela objasněn. Tento proces zahrnuje interakce bakterií se střevní stěnou, které jsou závislé na různých vlastnostech, jednou z nich je hydrofobicita povrchu buněk, tedy hydrofobicita tzv. S - vrstvy buněk (Collado a kol., 2007; Guglielmotti a kol., 2007).

Cílem práce bylo porovnat některé vlastnosti laktobacilů izolovaných z gastrointestinálního traktu plně kojených dětí s komerčně probiotickým kmenem a sbírkovým kmenem.

Materiál a metody

Použité mikroorganismy

Lactobacillus gasseri ZU11, *Lbc. casei* ZU10, *Lbc. acidophilus* Z1, *Lbc. acidophilus* Z3 - izoláty ze stolice plně kojených dětí, Česká zemědělská univerzita v Praze

Lbc. acidophilus CCDM 406 - sbírkový kmen, Laktoflora, Milcom, a.s., Praha

Lbc. acidophilus LA-5 - komerční probiotický kmen, Christian Hansen, Dánsko

Staphylococcus aureus MW2 - Institut National de la Recherche Agronomique, Francie

Staphylococcus aureus CCM 4516 - Česká sbírka mikroorganismů, Masarykova univerzita, Brno

Escherichia coli CNCTC 6859, *Enterobacter aerogenes* CNCTC 5592 - Česká národní sbírka typových kultur, Státní zdravotní ústav, Praha

Klebsiella pneumoniae DMF 8001 - VŠCHT v Praze, Ústav technologie mléka a tuků

Kmeny laktobacilů byly kultivovány 18 h v MRS bujónu (Oxoid, Velká Británie) v atmosféře 5 % obj. CO₂ při teplotě 37 °C.

Pro stanovení počtu laktobacilů byla použita plotnová metoda [KTJ ml⁻¹], kultivace probíhala 48 h při teplotě 37 °C v atmosféře 5 % obj. CO₂ na MRS agaru (Oxoid, Velká Británie).

Aktivní kyselost se měřila pomocí pH - metru (Jenway, 3020 pH meter, Velká Británie) se skleněnou elektrodou (HC 113). Titrační kyselost se stanovovala titrační metodou, titrací roztokem 0,25 mol.l⁻¹ NaOH (Lachner, ČR).

Pro zjištění životaschopnosti laktobacilů v prostředí simulujícím trávicí trakt (Botes a kol. (2008), Guglielmotti a kol. (2007), Maragkoudakis a kol. (2006) se použila kultura laktobacilů kultivovaná v mléce (24 h, 37°C, atmosféra 5 % obj. CO₂). Tato kultura byla přenesena do roztoku simulujícího prostředí žaludku (NaCl 0,5 % hm., pepsin 0,3 % hm., Fluka, Švýcarsko, pH 2±0,2) na dobu 3 h (37°C, atmosféra 5 % obj. CO₂). Po 3 h se pomocí 10% hm. NaOH upravilo pH roztoku na 6,8±0,2, přidaly se žlučové sole

(0,3 % hm., Ox - bile (Himedia, Indie)) a pankreatin (0,1 % hm., Fluka, Švýcarsko) pro simulaci prostředí tenkého střeva. V čase 0, 2, 3, 5, 6 a 7 h byly stanoveny počty buněk [KTJ ml⁻¹]. Pro každý kmen laktobacilů bylo toto stanovení provedeno dvakrát a výsledky byly vyjádřeny jako aritmetické průměry.

Schopnost autoagregace byla stanovena modifikovanou metodou dle Collada a kol. (2008) a Kose a kol. (2003). Kultura kultivovaná 16 h v MRS bujónu odstředěna (5000 ot. min⁻¹, 5 min, 4 °C) a supernatant odstraněn. Odstředěné buňky byly resuspendovány ve 40 ml fosfátového pufru (pH 7,0) na hodnotu absorbance 0,5±0,05 při vlnové délce 600 nm. Během stání takto připravených suspenzí při teplotě 37 °C byl odebírána v čase 0, 2, 4, 7 a 24 h 1 ml vzorku z hladiny roztoku a měřena absorbance při vlnové délce 600 nm. Uvedené výsledky jsou aritmetickým průměrem ze dvou stanovení. Pro výpočet procenta autoagregace byla použita rovnice:

$$\text{Autoagregace} = \left(1 - \frac{A_t}{A_0}\right) \cdot 100 [\%]$$

kde je:

A₀ - hodnota absorbance v čase 0 h

A_t - hodnota absorbance v čase 2, 4, 7 nebo 24 h

Hydrofobicita povrchu buněk byla stanovena metodou dle Kotzamanidise a kol. (2010). Kultura kultivovaná 18 h v MRS bujónu (5 ml, pH 5,6) byla odstředěna (3000 ot. min⁻¹, 10 min, 4 °C) a buňky byly dvakrát promyty ve 2 ml fosfátového pufru (pH 7,0). Odstředěné promyté buňky byly resuspendovány do roztoku KNO₃ (3 ml, 0,1 mol.l⁻¹) na hodnotu absorbance 0,5±0,05 při vlnové délce 600 nm. Do upravené suspenze byl přidán 1 ml xylenu. Po 10 min stání při laboratorní teplotě byla suspenze zamíchána na vortexu (2 min) a po 20 min byla oddělena vodná fáze od organické. U vodné fáze byla změřena absorbance (A₁) při vlnové délce 600 nm. Stanovení bylo provedeno dvakrát a výsledky byly vyjádřeny jako aritmetické průměry. Hydrofobicita povrchu buněk laktobacilů byla vypočtena dle rovnice:

$$H = \left(1 - \frac{A_1}{A_0}\right) \cdot 100 [\%]$$

kde je:

H - hydrofobicita povrchu buněk [%]

A₀ - absorbance suspenze před přidáním xylenu

A₁ - absorbance vodné fáze po promíchání s xylemem

Antimikrobiální aktivita laktobacilů se stanovovala podle Kučerové a kol. (2009) vpichovou metodou v BHI soft agaru. Ke stanovení inhibiční aktivity byly použity živé buňky, supernatanty po kultivaci a tepelně inaktivované buňky laktobacilů (121 °C, 15 min). Použité kultury laktobacilů byly kultivovány 18 h v MRS bujónu při teplotě 37 °C v atmosféře 5 % obj. CO₂. Inhibiční aktivita byla zjišťována proti bakteriím *E. coli* CNCTC 6859, *Klebsiella pneumoniae* DMF 8001, *Enterobacter aerogenes* CNCTC 5572, které byly kultivovány 18 h při 37 °C v atmosféře 5 % obj. CO₂ v BHI bujónu, *Staphylococcus aureus* MW2

a *Staphylococcus aureus* CCM 4516 aerobně. Stanovení inhibiční aktivity bylo vždy provedeno ve dvou paralelních stanoveních a výsledky byly vyjádřeny jako aritmetické průměry zón vzniklých kolem vpichu (mm).

Výsledky a diskuse

Celkový počet buněk po 24 h kultivaci laktobacilů izolovaných z trávicího traktu byl oproti sbírkovým kmenům laktobacilů *Lbc. acidophilus* CCDM 406, *Lbc. acidophilus* LA-5 podstatně menší a to především u *Lbc. gasseri* ZU11 a *Lbc. acidophilus* Z1, zřejmě z důvodu lepší adaptace sbírkových kmenů na prostředí mléka. Přesto i u těchto kmenů došlo během 24 h kultivace k nárůstu počtu buněk o více jak 2 řády. Schopnost fermentace mléka, spojená se snížením pH, je důležitým ukazatelem pro posouzení vhodnosti použití kmenů v mlékárenských technologiích. Sbírkové kmeny laktobacilů snížily pH mléka více než kmeny izolované z trávicího traktu (Tab. 1). Největší změna pH u laktobacilů izolovaných z trávicího traktu byla u *Lbc. casei* ZU10 a nejméně snižoval pH kmen *Lbc. gasseri* ZU11. Menší snížení pH u izolovaných kmenů bylo způsobené i menším růstem v mléce. Nejvyšší změnu titrační kyselosti prokazují sbírkové kmeny *Lbc. acidophilus* CCDM 406 a *Lbc. acidophilus* LA-5, to je způsobené lepším růstem v mléce. Izoláty z trávicího traktu prokysávaly méně až na výjimku *Lbc. casei* ZU10, který měl dvojnásobnou kysací schopnost než ostatní izoláty (Tab. 1).

Kmeny laktobacilů izolované z trávicího traktu byly podle očekávání více odolné k simulovanému prostředí trávicího traktu než kmeny sbírkové. Pouze kmeny *Lbc. acidophilus* Z1 a *Lbc. acidophilus* Z3 snížily svůj počet buněk o 1 a 0,5 řádu po 7 h simulace. Celkový počet buněk u kmenů *Lbc. casei* ZU10 a *Lbc. gasseri* ZU11 po 7 h byl stejný jako v 0 h stanovení. Naopak kmeny sbírkové *Lbc. acidophilus* CCDM 406 a *Lbc. acidophilus* LA-5 snížily celkový počet buněk o 3 a 2 řády. Tímto tématem se zabývala řada prací (Botes a kol. (2008), Vinderola a Reinheimer (2003) a další), ale většina z nich sleduje životaschopnost buněk izolovaných odstředěním z kultivačního média v prostředí simulující jednotlivé části trávicího traktu. Mikroorganismy mohou být chráněny protektivními účinky média, je tedy důležité sledovat životaschopnost buněk v prostředí simulující trávicí trakt s kultivačním médiem.

Tab. 1 Kysací schopnosti testovaných laktobacilů v mléce

čas [h]	pH					
	LC	LG	406	Z1	Z3	LA-5
0	6,7	6,7	6,7	6,7	6,7	6,7
24	5,4	6,2	4,5	6,2	6,1	4,6

čas [h]	Titrační kyselost [°SH]					
	LC	LG	406	Z1	Z3	LA-5
0	7,9	7,5	7,6	7,6	7,7	7,6
24	21,7	10,3	34,1	10,2	10,6	33,7

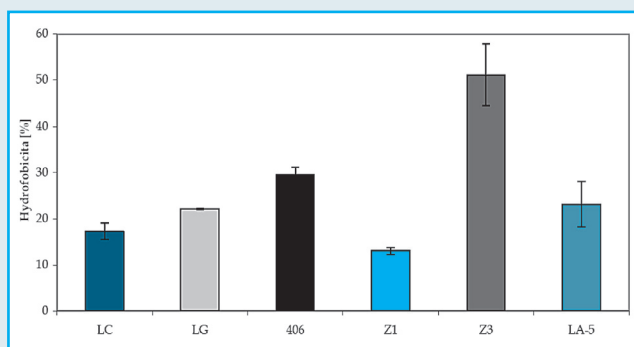
LC - *Lbc. casei* ZU10; LG - *Lbc. gasseri* ZU11; 406 - *Lbc. acidophilus* CCDM 406; Z1 - *Lbc. acidophilus* Z1; Z3 - *Lbc. acidophilus* Z3; LA-5 - *Lbc. acidophilus* LA-5

Tab. 2 Inhibiční aktivita laktobacilů

		LC	LG	406	Z1	Z3	LA-5
<i>Staphylococcus aureus</i> MW2	živé buňky	+++	++	+	++	++	+
	supernatant	++	++	-	++	+	-
	tepelně inaktivované	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 4516	živé buňky	+++	+++	+	++	++	+
	supernatant	++	++	-	++	+	-
	tepelně inaktivované	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> CNCTC 6859	živé buňky	++	++	+	++	++	++
	supernatant	++	+	-	++	++	-
	tepelně inaktivované	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> DMF 8001	živé buňky	+	+	+	++	++	+
	supernatant	+	+	-	+	+	-
	tepelně inaktivované	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter aerogenes</i> CNCTC 5572	živé buňky	+	+	+	+	+	+
	supernatant	+	+	-	+	+	-
	tepelně inaktivované	-	-	-	-	-	-

- neprokázaná inhibice; + 1 - 6 mm; ++ 7 - 12 mm; +++ 13 - 19 mm; LC - *Lbc. casei* ZU10; LG - *Lbc. gasserii* ZU11; 406 - *Lbc. acidophilus* CCDM 406; Z1 - *Lbc. acidophilus* Z1; Z3 - *Lbc. acidophilus* Z3; LA-5 - *Lbc. acidophilus* LA-5

Graf č. 1. Hydrofobicita povrchu buněk laktobacilů



hydrofobní rozpouštědlo xylen; hydrofilní látka dusičnan draselný; LC - *Lbc. casei* ZU10; LG - *Lbc. gasserii* ZU11; 406 - *Lbc. acidophilus* CCDM 406; Z1 - *Lbc. acidophilus* Z1; Z3 - *Lbc. acidophilus* Z3; LA-5 - *Lbc. acidophilus* LA-5

Schopnost autoagregace je důležitá vlastnost při adhezi mikroorganismů ke střevní stěně. Může také chránit hostitele před kolonizací nežádoucích mikroorganismů, jejich rozmnožování a následné produkci toxických látek (Collado a kol., 2007). Největší schopnost autoagregace vykazovaly sbírkové kmeny *Lbc. acidophilus* CCDM 406 a *Lbc. acidophilus* LA-5, po 24 h dosáhly 83,6 % a 88,1 % autoagregace, naopak nejméně autoagregoval po 24 h kmen *Lbc. casei* ZU10, dosáhl autoagregace 32,7 %. Kmeny *Lbc. acidophilus* po 24 h vykazovaly schopnost autoagregace v rozmezí od 43 % do 88 %. Z těchto výsledků lze tvrdit, že tato vlastnost je kmenově specifická. Collado a kol. (2008) také sledoval schopnost autoagregace laktobacilů, testoval kmeny *Lbc. acidophilus* NCFM a *Lbc. casei* Shirota. Jeho výsledky u kmene *Lbc. casei* Shirota se shodují ve 2 h s naměřenými hodnotami v této práci, ve 24 h však hodnoty jím stanovené byly vyšší. Schopnost autoagregace ve 2 h u kmene *Lbc. acidophilus* NCFM byla 8,4 % a ve 24 h 33,5 %.

Hydrofobicita buněčné stěny mikroorganismu je jednou z fyzikálně - chemických vlastností, s jejíž pomocí dochází k prvnímu kontaktu mikroorganismu s buňkami střevního epitelu hostitele. Tato interakce je reverzibilní a předchází adhezi buněk k sliznici trávicího traktu. Hydrofobicita

povrchu buněk může tedy podporovat přilnavost, ale není to předpoklad k pevné adhezi (Guglielmotti a kol., 2007). Adheze k buňkám střevního epitelu je základem kolonizace trávicího traktu a zabraňuje odstranění mikroorganismů ze střeva pomocí peristaltických pohybů střeva (Rivera - Espinoza a Gallardo - Navarro, 2010). Nejvyšší hydrofobicitu měl *Lbc. acidophilus* Z3 (51,2 %) a nejnižší *Lbc. acidophilus* Z1 (13,0 %) (Obr. 1). Tato vlastnost je kmenově specifická, to vyplývá z této studie i z dalších prací. Hydrofobicita byla stanovena u různých kmenů *Lbc. casei*, kde byly zjištěny hodnoty v rozmezí 5,81 - 42,52 % (Mishra a Prasad, 2005).

Inhibiční aktivita laktobacilů je důležitá vlastnost pro prevenci a léčbu onemocnění způsobené různorodými mikroorganismy (König a Fröhlich, 2009), ale i pro zamezení růstu nežádoucích mikroorganismů v potravinách (Izquierdo a kol., 2009). Inhibice může být způsobena produkcí látek, které působí na nežádoucí mikroorganismy bakteriocidně nebo bakteriostaticky, například kyseliny, bakteriociny, oxid uhličitý, diacetyl, peroxid vodíku a další (Servin, 2004). V tomto stanovení bylo laktobacily inhibováno pět bakterií: *Staphylococcus aureus* MW2, *Staphylococcus aureus* CCM 4516, *E. coli* CNCTC 6859, *Klebsiella pneumoniae* DMF 8001 a *Enterobacter aerogenes* CNCTC 5572. Tyto bakterie mohou být podmíněnými patogeny způsobující např. onemocnění kůže, měkkých tkání, kostí, kloubů, infekce močových cest, krevního oběhu, centrálního nervového oběhu, dýchacích cest. Nebezpečné jsou především pro starší lidi a děti (Kang a kol., 2011). U tepelně inaktivovaných buněk testovaných laktobacilů nebyla prokázána žádná inhibiční aktivita vůči použitým bakteriím. Byly zjištěny významné rozdíly v inhibiční aktivitě kmenů izolovaných z trávicího traktu a kmenů sbírkových. Supernatanty sbírkových kmenů laktobacilů (*Lbc. acidophilus* CCDM 406 a *Lbc. acidophilus* LA-5) inhibiční aktivitu neprojevovaly vůbec a jejich živé buňky jen slabě (Tab. 2). Kmeny izolované z trávicího traktu byly schopné inhibovat růst jak živými buňkami, tak

i jejich supernatantem. Laktobacily nejméně inhibovaly růst *Enterobacter aerogenes* CNCTC 5572. V práci Elkins a kol. (2008) byla také prokázána inhibiční aktivita kmenů laktobacilů *Lbc. acidophilus* (6 kmenů), *Lbc. casei* (1 kmen), *Lbc. gasseri* (3 kmene) ke kmenům *Staphylococcus aureus*.

Z výsledků vyplývá, že by laktobacily pro nejlepší antimikrobiální ochranu a tudíž i ovlivnění zdravotního stavu hostitele měly být v životaschopné formě a izolované z trávicího traktu člověka. Z hlediska technologického využití by mohl být kmen *Lbc. casei* ZU10 použit jako doplňková probiotická kultura, ostatní izoláty dostatečné růstové a kysací vlastnosti v mléce neprokázaly. *Lbc. acidophilus* Z3 prokázal nejvyšší autoagregační schopnost a hydrofobicitu povrchu buněk ze všech kmenů izolovaných z trávicího traktu a proto by měl být schopen nejlepší adheze ke střevní stěně. Ostatní kmene v porovnání s vlastnostmi komerčního probiotického kmene *Lbc. acidophilus* LA-5 a sbírkového kmene *Lbc. acidophilus* CCDM 406 vykazují probiotické vlastnosti v menším rozsahu. Dále se prokázalo, že autoagregace a hydrofobita povrchu buněk jsou kmenově specifické vlastnosti.

Autoři článku děkují Doc. Ing. Evě Vlkové, PhD. z ČZÚ v Praze za poskytnutí izolátů laktobacilů.

Práce byla podpořena grantem MZe ČR č. QI 111B053 z programu Výzkum v agrárním komplexu VAK s počátkem řešení projektů v roce 2011.

Literatura

- BOTES M., VAN REENEN C.A., DICS L.M.T. (2008): Evaluation of *Enterococcus mundtii* ST4SA and *Lactobacillus plantarum* 423 as probiotics by using a gastro-intestinal model with infant milk formulations as substrate. *International Journal of Food Microbiology*, 128, s. 362-370.
- COLLADO M.C., MERILUOTO J., SALMINEN S. (2007): Measurement of aggregation properties between probiotics and pathogens: In vitro evaluation of different methods. *Journal of Microbiological Methods*, 71, s. 71-74.
- COLLADO M.C., MERILUOTO J., SALMINEN S. (2008): Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. *European Food Research Technology*, 226, s. 1065-1073.
- ELKINS C.A., MUÑOZ M.E., MULLIS L.B., STINGLEY R.L., HART M.E. (2008): Lactobacillus-mediated inhibition of clinical toxic shock syndrome *Staphylococcus aureus* strains and its relation to acid and peroxide production. *Anaerobe*, 14, s. 261-267.
- FRÍČ P. (2005): Probiotika v terapii chorob trávicího ústrojí. *Interní medicína pro praxi*, 10, s. 434-437.
- GUGLIELMOTTI D.M., BRIGGILER M.M., GOLOWCZYC M., REINHEIMER J.A., QUIBERONI A.L. (2007): Probiotic potential of *Lactobacillus delbrueckii* strains and their phage resistant mutants. *International Dairy Journal*, 17, s. 916-925.
- IANNITTI T., PALMIERI B. (2010): Therapeutic use of probiotic formulations in clinical practice. *Clinical Nutrition*, 29, s. 701-725.
- IZQUIERDO E., MARCHIONI E., AOUDE-WERNER D., HASSELMANN C., ENNAHAR S. (2009): Smearing of soft cheese with *enterococcus faecium* WHE 81, a multibacteriocin producer, against *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*, 26, s. 16-20.
- KANG C.I., SONG J.H., KO K.S., CHUNG D.R., PECK K.R. (2011): Clinical features and outcome of *Staphylococcus aureus* infection in elderly versus younger adult patients. *International Journal of Infectious Diseases*, 15, s. 58-62.
- KOHOUT P. (2010): Probiotika, historie a současnost. *Medicína pro praxi*, 2, s. 1-10.
- KÖNIG H., FRÖHLICH J. (2009): Lactic Acid Bacteria. Ve: KÖNIG, H., UNDEN, G., FRÖHLICH, J. (edit.): *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. kap. 1, (s. 3-29). Berlin, Springer-Verlag.

- KOS B., ŠUŠKOVIĆ J., VUKOVIĆ S., ŠIMPRAGA M., FRECE J., MATOŠIĆ S. (2003): Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. *Journal of Applied Microbiology*, 94, s. 981 - 987.
- KOTZAMANIDIS C., KOURELIS A., LITPOPOULOU-TZANETAKI E., TZANETAKIS N., YIANGOU M. (2010): Evaluation of adhesion capacity, cell surface traits and immunomodulatory activity of presumptive probiotic *Lactobacillus* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 14, s. 154-163.
- KUČEROVÁ K., KORBOVÁ I., HORÁČKOVÁ Š., ŠVIRÁKOVÁ E., PLOCKOVÁ M. (2009): Influence of Enterococci and Lactobacilli on *Listeria*. *Czech Journal of Food Science, Special Issue*, 27, s. 12-17.
- MARAGKOUAKIS P.A., ZOUMPOPOULOU G., MIARIS C., KALANTZOPOULOS G., POT B., TSAKALIDOV E. (2006): Probiotic potencial of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *International Dairy Journal*, 16, s. 186-199.
- MISHRA V., PRASAD D.N. (2005): Application of in vitro methods for selection of *Lactobacillus casei* strains as potential probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 103, s. 109- 115.
- RIVERA-ESPIÑOZA Y., GALLARDO-NAVARRO Y. (2010): Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27, s. 1-11.
- SERVIN A.L. (2004): Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiology Reviews*, 28, s. 405-440.
- VINDEROLA C.G., REINHEIMER J.A. (2003): Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative "in vitro" study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Research International*, 36, s. 895-904.

Přijato do tisku 3. 11. 2011

Lektorováno 16. 11. 2011

IDENTIFIKACE KMENŮ BAKTERIÍ RODU *CLOSTRIDIUM* IZOLOVANÝCH ZE SÝRŮ

^aBohuslav Rittich, ^bMaria Chroboková,

^aBarbora Gregušová, ^aAlena Španová

^a Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická,
Purkyňova 118, 612 00 Brno,

^b MILCOM, a.s., Výzkumný stav mlékárenský, 390 02 Tábor

Identification of bacterial *Clostridium* strains isolated from cheese

Souhrn

Byl analyzován soubor 40 kmenů, které byly izolovány z mléka a sýrů s pozdním duřením. Pomocí rodově specifické PCR bylo potvrzeno zařazení kmenů do rodu *Clostridium*. Pomocí druhově specifických PCR bylo 5 kmenů zařazeno do druhu *C. butyricum* a 26 kmenů do druhu *C. tyrobutyricum*. Variabilita jednotlivých kmenů v uvedených druzích byla posouzena pomocí rep-PCR a RAPD.

Abstract

PCR methods were used to analyse and identify the collection of 40 bacterial strains isolated from milk and late-blowing cheeses. It was proved that all of the strains belong to *Clostridium* genus. Species identification was achieved for 31 strains, where 5 strains were identified as *Clostri-*