

# PROBIOTICKÉ VLASTNOSTI KMENŮ *LACTOBACILLUS* *PLANTARUM*

Ivana Lisová, Gabriela Kunová, Jana Chmúrová

Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

## Probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* strains

### Abstrakt

U souboru izolovaných kmenů *Lactobacillus plantarum* z různých zdrojů byly zkoumány jejich potenciálně probiotické vlastnosti. U vybraného souboru kmenů byl testován vliv nízkého pH a žlučových solí na jejich růst. Dále byly sledovány i vlastnosti důležité pro adhezi (autoagregace a hydrofobicita) kmenů, jejich antimikrobiální aktivita k technologicky a zdravotně nežádoucím mikroorganismům a rezistence k 10 vybraným antibiotikům. Při testování růstové aktivity v médiu o pH 2 docházelo k výrazné inhibici růstu kmenů *Lbc. plantarum* v průměru o 36,2 % a v médiu o pH 4 pouze v průměru o 6,5 %. Vlastností vhodné pro adhezi byly pozorovány u kmene *Lbc. plantarum* CCDM 194. U žádného z testovaných kmenů laktobacilů nebyla zjištěna antimikrobiální aktivita ke kmenům *Candida albicans* CCM 8215 a *Aspergillus brasiliensis* CCM 8222. Při testování rezistence k antibiotikům byla zjištěna přirozená rezistence vůči antibiotikům kanamycinu, streptomycinu a vankomycinu. K ostatním terapeuticky využívaným antibiotikům (ampicilinu, erytromycinu, quinupristinu/dalfopristinu, tetracyklinu a chloramfenikolu) byl testovaný soubor kmenů senzitivní.

**Klíčová slova:** *Lactobacillus plantarum*, hydrofobicita, autoagregace, antibiotická rezistence, antimikrobiální aktivita, žlučové soli

### Abstract

In a group of *Lactobacillus plantarum* strains (isolated from various sources), their potential probiotic properties were investigated. Selected strains were tested for their resistance to low pH and bile salts. Properties important for adhesion (autoaggregation and hydrophobicity) were tested too, as well as their antimicrobial activity against pathogenic bacteria and 10 antibiotics. A significant inhibition of bacterial growth in medium of pH 2 was observed (in average 36,2 %). In medium with pH 4 their growth was inhibited just slightly (6,5 % in average). The best autoaggregation and hydrophobicity properties were observed in strain *Lbc. plantarum* CCDM 194. None of the strains exhibited antimicrobial activity against *Candida albicans* CCM 8215 and *Aspergillus brasiliensis* CCM 8222. Intrinsic resistance against antibiotics kanamycin,

streptomycin and vancomycin was detected. All strains were sensitive to therapeutically used antibiotics - ampicilin, erytromycin, quinupristin / dalfopristin, tetracycline and chloramphenicol.

**Key words:** *Lactobacillus plantarum*, hydrophobicity, autoaggregation, antibiotic's resistance, antimicrobial activity, bile salts

### Úvod

Positivní vliv laktobacilů na lidské zdraví ve formě tradičních fermentovaných výrobků je znám již po staletí. I přes dlouhou dobu bezpečného používání bakterií mléčného kvašení v mléčných výrobcích je důležité pro eliminaci negativního dopadu na lidské zdraví, aby kmeny aplikované do potravin nebo doplňků stravy jako probiotika splňovaly určitá kritéria. Mezi základní kritéria patří odolnost k podmínkám gastrointestinálního traktu člověka, kde na životaschopnost kmenů negativně působí celá řada faktorů, např. nízké pH žaludku, žlučové soli, trávicí enzymy a další (Parvez a kol., 2006). Funkčnost probiotik závisí především na schopnosti kolonizace epitelu střeva a zapojení se do střevní mikroflóry, kterou ovlivňují schopností adheze (Margolles a kol., 2009). Jednou z dalších důležitých vlastností je antimikrobiální aktivita vůči nežádoucím patogenům vyskytujícím se v gastrointestinálním traktu člověka. Nežádoucí patogeny jsou inhibovány antimikrobiálními látkami produkovanými probiotickými mikroorganismy především kyselinou mléčnou a bakteriociny. Další možností inhibice patogenů je kompetice o vazebné místo na střevním epitelu (O'Connor a kol., 2005). V současné době je i striktně sledován antibiotický profil probiotických kmenů používaných v potravinářském průmyslu z důvodu vzrůstající rezistence k antibiotikům u kmenů nebezpečných pro lidské zdraví (Mathur a Singh, 2005; EFSA, 2008; FAO/WHO, 2002).

Cílem této práce bylo otestovat probiotický potenciál u 13 kmenů *Lactobacillus plantarum* izolovaných z různých zdrojů. Výskyt *Lbc. plantarum* je velmi rozmanitý, lze ho nalézt kromě mléka a mléčných výrobků i v mase, rybách, zelenině, silážích a dalších substrátech. Řada studií zabývající se vlastnostmi kmenů *Lbc. plantarum* prokázala řadu pozitivních vlastností důležitých pro lidské zdraví např. schopnost přežít střevní tranzit a adhezi ke střevnímu epitelu, snížení rizika průjemových onemocnění a nadýmání aj. (Zago a kol., 2011; Parvez a kol., 2006).

### Materiál a metodika

#### Použité mikroorganismy

Ze Sbírký mlékařských mikroorganismů Laktoflora® (CCDM - Culture Collection of Dairy Microorganisms) bylo k testování vybráno 13 kmenů *Lactobacillus plantarum* izolovaných z různých matric (Tab. 1). K testování antimikrobiální aktivity kmenů *Lbc. plantarum* byly zvoleny technologicky a zdravotně nežádoucí kmeny *Staphylococcus aureus* CCM 4516, *Escherichia coli* CCM 3954,

**Tab. 1** Seznam testovaných kmenů ze Sbírky mlékařských mikroorganismů Laktoflora®

Kmen	CCDM	Původ
<i>Lbc. plantarum</i>	147	lyofilizovaná kultura
<i>Lbc. plantarum</i>	178	originální kultura
<i>Lbc. plantarum</i>	181	siláž
<i>Lbc. plantarum</i>	182	siláž
<i>Lbc. plantarum</i>	183	kysaný mléčný výrobek
<i>Lbc. plantarum</i>	188	nakládané zelí
<i>Lbc. plantarum</i>	194	originální kultura
<i>Lbc. plantarum</i>	375	lidská stolice
<i>Lbc. plantarum</i>	381	syrové kravské mléko
<i>Lbc. plantarum</i>	384	syrové kravské mléko
<i>Lbc. plantarum</i>	388	kozí sýr
<i>Lbc. paraplantarum</i>	378	kontaminant piva
<i>Lbc. plantarum</i> subsp. <i>argentoratensis</i>	806	fermentované hlízy manioku

*Aspergillus brasiliensis* CCM 8222 a *Candida albicans* CCM 8215 z České sbírky mikroorganismů v Brně (CCM - Czech Collection of Microorganisms).

### Stanovení vlivu nízkého pH a žlučových solí na růst kmenů *Lbc. plantarum*

Ke stanovení vlivu nízkého pH na růst vybraných kmenů byl připraven MRS bujon (MERCK, Německo) o pH 2,0 a 4,0. Růst laktobacilů v nízkém pH byl porovnáván s růstem ve standardních podmínkách (MRS bujon, pH 5,7). Ke stanovení tolerance testovaných kmenů ke žlučovým solím byla modifikována metodika dle Dinhg a Shah (2007) a Burns a kol. (2008). V obou případech bylo testování prováděno pomocí mikrotitračních destiček, do kterých bylo odpipetováno 300 µl vytemperovaného MRS bujonu o definovaném pH nebo s přidávkou žlučových solí (Sigma-Aldrich, USA) o koncentracích 0 %, 0,3 %, 0,5 % a 1 % a zaočkováno 10 µl kultury. Kultivace a měření absorbance (Microplate Reader ELx808, Bio-Tek, USA) probíhaly u stanovení vlivu nízkého pH po dobu 21 hodin a u stanovení vlivu žlučových solí po dobu 30 hodin při teplotě 37 °C. Absorbance byla měřena při vlnové délce 630 nm. Veškerá měření byla provedena třikrát.

### Stanovení hydrofobicity

Pro stanovení hydrofobicity byly buňky odstředěny z kultivačního média po 18 hodinové kultivaci, promyty fosfátovým pufrům a znovu odstředěny (5000 rpm, 5 min.) (Kos a kol., 2003). Poté byly buňky resuspendovány ve fosfátovém pufru tak, aby se optická denzita suspenze pohybovala v rozmezí 0,58-0,62. Do zkumavky s víčkem bylo odebráno 2,5 ml této suspenze a přidáno 250 µl hexanu (Martienssen a kol., 2001; Geertsema-Doornbusch a kol., 1993). Vzorek byl intenzivně míchán na vortexu po dobu 1 minuty. Po 10 minutách, kdy byla zkumavka ponechána v klidu při laboratorní teplotě, byla odebrána vodná fáze a změřena optická denzita vzorku při vlnové délce 600 nm. Výsledná hydrofobicita měřeného vzorku byla vypočtena ze vzorce:

$$H = \frac{OD_{\text{původní}} - OD_{\text{extrahovaná}}}{OD_{\text{původní}}} \cdot 100\%$$

H - hodnota hydrofobity (%)

OD<sub>původní</sub> - hodnota optické denzity suspenze před extrakcí

OD<sub>extrahované</sub> - hodnota optické denzity vodné fáze po extrakci hexanem

### Antimikrobiální aktivita vůči patogenním MO

K testování inhibiční aktivity vybraných kmenů *Lactobacillus plantarum* byly vybrány patogenní mikroorganismy *Staphylococcus aureus* CCM 4516, *E. coli* CCM 3954, *Aspergillus brasiliensis* CCM 8222 a *Candida albicans* CCM 8215 (Ruiz a kol., 2009). Z želatinových disků patogenních kmenů bylo připraveno 2. ředění a 1 % obj. přidáno do půdy GTK. Po zatumnutí byl GTK agar zaočkován vpichovou metodou živými buňkami testovaných kmenů (10 µl), které byly 18 hodin předkultivovány v MRS bujonu a poté odstředěny po dobu 5 minut a 5000 rpm. Misky byly kultivovány v aerobním prostředí při 37 °C po dobu 18 hodin. Poté byly změřeny velikosti zón a vyhodnoceny výsledky (0 mm - neprokázaná inhibice, 1 - 6 mm - slabá inhibiční aktivita, 7 - 12 mm - inhibice; 13 - 19 mm - silná inhibiční aktivita). Uváděné výsledky představují průměr ze tří stanovení.

### Autoagregace

Kultura po 18 hodinové kultivaci v MRS bujonu byla odstředěna (5000 rpm, 5 min.), resuspendována ve fosfátovém pufru tak, aby optická hustota suspenze byla  $0,5 \pm 0,05$  při vlnové délce 600 nm. Poté byl vzorek intenzivně míchán na vortexu po dobu 10 s a kultivován při teplotě 37 °C. Ve stanovených časových intervalech (2, 4, 7 a 24 hod) byly opatrně odebírány z povrchu 2 ml a měřena absorbance. Výsledná schopnost autoagregace byla vypočtena z průměrné hodnoty ze tří stanovení dle vzorce (Kos a kol., 2003):

$$A = \left(1 - \frac{A_t}{A_0}\right) \cdot 100\%$$

A - hodnota autoagregace (%)

A<sub>0</sub> - hodnota absorbance v čase 0 h

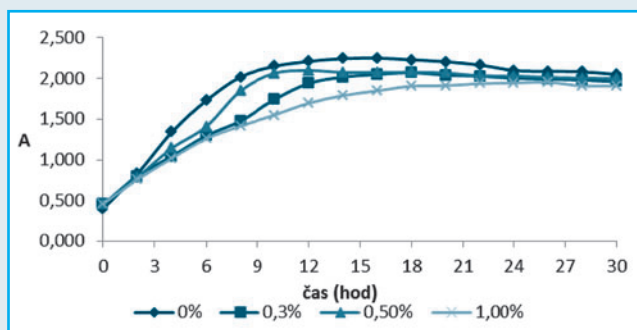
A<sub>t</sub> - hodnota absorbance v čase 2, 4, 7 a 24 h

### Stanovení citlivosti k ATB

Citlivost k antibiotikům vybraného souboru kmenů *Lbc. plantarum* byla testována s využitím difuzní diskové metody. K testování bylo vybráno 10 antibiotik (ampicillin (10 µg), vankomycin (5 µg), gentamicin (10 µg), kanamycin (30 µg), streptomycin (25 µg), erytromycin (15 µg), klindamycin (2 µg), quinupristin/dalfopristin (15 µg), tetracyklin (30 µg) a chloramfenikol (30 µg)) od firmy Oxoid (UK). Na Petriho misky se ztuhlým MRS agarem o pH 5,7 bylo rozetřeno 0,1 ml kultury v exponenciální fázi růstu. Po zaschnutí kultury byly aplikovány disky s antibiotiky. Po 18 hodinách kultivace při 37 °C byl změřen průměr jednotlivých zón v milimetrech a vyhodnoceny výsledky, kdy velikost zón 6-12 mm označuje rezistenci kmene (R), 12-16 mm rozmezí mezi sensitivitou a rezistencí (R/S) a >16 mm značí kmen sensitivní (S). Výsledky jsou uváděny jako průměr ze tří stanovení.

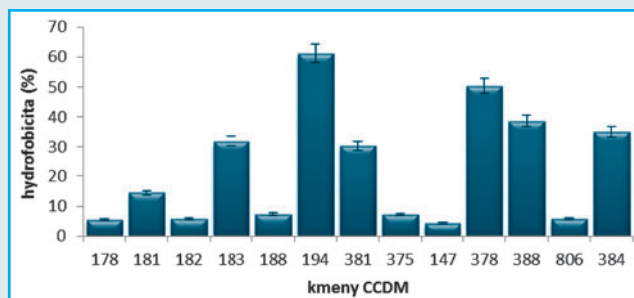
## Výsledky a diskuze

Jedním z hlavních faktorů ovlivňujících životaschopnost buněk při průchodu gastrointestinálním traktem člověka je nízké pH v žaludku, trávicí enzymy a žlučové soli v tenkém střevě (Jensen a kol., 2012; Nazzaro a kol., 2012; Zago a kol., 2011). Pro testování vlivu pH na životaschopnost vybraných kmenů *Lbc. plantarum* byly zvoleny hodnoty pH 2 a 4, které se vyskytují v gastrointestinálním traktu člověka a také silážích, do kterých jsou kmeny *Lbc. plantarum* aplikovány ve formě silážních kultur. Kultivace kmenů probíhala po dobu 21 hodin při teplotě 37 °C. Z výsledků uvedených v tabulce 2 vyplývá, že růst vybraných kmenů na médiu o pH 4 byl v průměru o ± 6,5 % nižší než kontrola (pH 5,7). Při růstu testovaných kmenů na médiu o pH 2 docházelo k výraznější inhibici než v případě média s pH 4. V průměru se růst testovaných kmenů snížil o 36,2 % vzhledem ke kontrole. Z testovaných kmenů byl nejodolnější kmen *Lbc. plantarum* CCDM 194 a naproti tomu nejcitlivější byl kmen *Lbc. plantarum* CCDM 381. V případě vlivu žlučových solí na růst vybraných kmenů *Lbc. plantarum* byl během prvních 12 hodin pozorován inhibiční účinek všech použitých koncentrací žlučových solí (Obr. 1). Po 12 hodinách u některých kmenů (CCDM 188, 182, 183 a 375) docházelo k adaptaci především k nižším koncentracím žlučových solí (0,3 a 0,5 %).

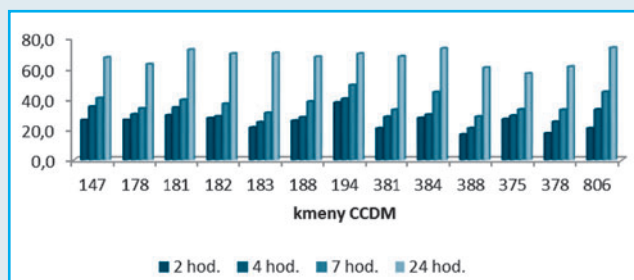


Obr. 1 Vliv žlučových solí na růst kmene *Lbc. plantarum* CCDM 147

Schopnost adheze na střevní epitel patří mezi základní vlastnosti, které jsou požadovány od probiotických mikroorganismů z důvodu kolonizace gastrointestinálního traktu a ochraně vůči nežádoucím mikroorganismům. Schopnost adheze je založena na vlastnostech buněčného



Obr. 2 Porovnání hydrofobicity testovaných kmenů *Lbc. plantarum*



Obr. 3 Porovnání schopnosti autoagregace testovaných kmenů *Lbc. plantarum*

povrchu např. autoagregaci a hydrofobicitě. (Zavišić a kol., 2011; Nazzaro a kol., 2012) MATH (Microorganism Adhesion To Hydrocarbon) metoda byla použita k testování hydrofilní/ hydrofobní vlastnosti buněčného povrchu vybraného souboru kmenů *Lbc. plantarum*. Metoda MATH je založená na extrakci buněčné suspenze uhlovodíku, který slouží jako hydrofobní substrát pro buněčnou suspenzi. Z námi zjištěných výsledků (Obr. 2 a 3) je patrné, že schopnost autoagregace a hydrofobicity je kmenově specifická. Z testovaného souboru kmenů byla nejvyšší schopnost autoagregace a hydrofobicity prokázána u kmene *Lbc. plantarum* CCDM 194.

Antimikrobiální aktivita je jednou z vlastností probiotických mikroorganismů, která je využívána nejen k prevenci a léčbě infekčních onemocnění, je také důležitou vlastností některých mikroorganismů, prostřednictvím které dochází k omezení růstu nežádoucích mikroorganismů (O'Connor a kol., 2005, Mills a kol., 2011, Servin, 2008). Antimikrobiální aktivita je u kmenů *Lbc. plantarum* způsobena kromě jiného, produkcí bakteriocinů (Niku-Paavola a kol., 1999). K testování byl vybrán jako nežádoucí podmíněně patogenní kmen *Staphylococcus aureus* CCM 4516,

Tab. 2 Výsledky vlivu nízkého pH na růst testovaných kmenů *Lbc. plantarum* při absorpenci 630 nm

Kmeny CCDM	147	178	181	182	183	194	188	375	381	388	378	384	806
pH 5,7													
čas													
0	0,291	0,221	0,240	0,251	0,238	0,291	0,241	0,313	0,179	0,295	0,268	0,287	0,257
21	2,035	1,797	1,956	1,929	1,754	1,951	1,703	1,732	1,270	1,971	1,908	1,679	1,790
pH 4													
čas													
0	0,342	0,330	0,288	0,306	0,287	0,346	0,297	0,356	0,213	0,381	0,307	0,341	0,327
21	2,060	1,799	2,119	2,106	1,849	2,176	1,349	1,329	0,815	2,066	1,696	1,339	1,531
pH 2													
čas													
0	0,360	0,336	0,358	0,351	0,319	0,414	0,356	0,418	0,279	0,374	0,375	0,373	0,319
21	1,360	1,057	1,322	1,215	1,244	1,690	0,893	1,103	0,664	1,284	1,201	0,953	1,117

**Tab. 3** Antimikrobiální aktivita testovaných kmenů vůči nežádoucím MO

Kmen CCDM	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. brasiliensis</i>
147	++	++	-	-
178	++	+++	-	-
181	++	+++	-	-
182	++	++	-	-
183	++	+++	-	-
188	++	+	-	-
194	-	++	-	-
375	++	-	-	-
381	-	-	-	-
384	++	++	-	-
388	++	++	-	-
378	++	++	-	-
806	+++	++	-	-

- neprokázaná inhibice; průměr inhibiční zóny: + 1 - 6 mm; ++ 7 - 12 mm; +++ 13 - 19 mm;

*E. coli* CCM 3954, *Aspergillus brasiliensis* CCM 8222 a *Candida albicans* CCM 8215. Ke stanovení inhibiční aktivity testovaných kmenů byla použita vpichová metoda, kde se inhibiční účinek vybraného souboru kmenů *Lbc. plantarum* projevil tvorbou inhibičních zón. U většiny testovaných kmenů byla prokázána antimikrobiální aktivita vůči kmenům *S. aureus* a *E. coli*, s výjimkou kmene *Lbc. plantarum* CCM 381, u kterého nebyla prokázána žádná antimikrobiální aktivita. Žádný z kmenů z testovaného souboru nevykazoval antimikrobiální aktivitu k vybraným kmenům kvasinek a plísní (Tab. 3).

K testování rezistence kmenů *Lbc. plantarum* k vybraným antibiotikům byla použita difuzní metoda, která je dle výjimky EFSA použitelná pro testování antibiotické rezistence u rodů *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium* a *Leuconostoc* (EFSA, 2008). Rezistenci k antibiotikům lze obecně rozdělit na přirozenou a získanou, která je přenášena horizontálně (transdukci, konjugací a transformací). V trávicím traktu dochází k nežádoucímu přenosu genů kódujících rezistenci k antibiotikům mezi mikroflórou a zdravotně nežádoucími mikroorganismy, čímž dochází k terapeutickému snížení účinnosti antibiotik

(Mathur a Singh, 2005; Scott, 2002). V současné době, kdy jsou antibiotika používána v rozsáhlém množství, představuje nárůst rezistence vůči antibiotikům závažný problém. Z tohoto důvodu EFSA i WHO/FAO vydaly nařízení pro testování antibiotického profilu probiotických a potenciálně probiotických mikroorganismů (EFSA, 2008; WHO/FAO, 2002). U námi testovaného souboru kmenů *Lbc. plantarum* byla zjištěna 100 % citlivost k terapeuticky používaným antibiotikům ampicilinu, erytromycinu, quinupristinu/dalfopristinu, tetracyklinu a chloramfenikolu (Tab. 4). Rezistence k antibiotikům je především druhově i kmenově specifická (Salminen a kol., 2006; Mathur a Singh, 2005), z toho důvodu byla u některých kmenů zjištěna pouze částečná rezistence u gentamycinu (31%) a naopak u klindamycinu (38 %) částečná citlivost. U všech kmenů byla zjištěna přirozená rezistence k vancomycinu, kanamycinu a streptomycinu (Danielsen a Wind, 2003).

## Závěr

U vybraných 13 sbírkových kmenů *Lactobacillus plantarum* byla zkoumána možnost jejich probiotického potenciálu. Kmeny byly testovány na odolnost vůči nízkému pH a žlučovým solím. Byla zjišťována jejich antimikrobiální aktivita vůči nežádoucím a podmíněně patogenním mikroorganismům a také rezistence k antibiotikům. Dále u nich byly zkoumány vlastnosti důležité pro adhezi, tedy hydrofobicita a autoagregace. Při testování hydrofobicity, autoagregace, vlivu nízkého pH se jako nejvhodnější dle výsledků ukázal kmen *Lbc. plantarum* CCM 194, u kterého nebyla stanovena antimikrobiální aktivita k *S. aureus*. U žádného z testovaných kmenů nebyla zjištěna antimikrobiální aktivita vůči *Aspergillus brasiliensis* CCM 8222 a *Candida albicans* CCM 8215. Při sledování antibiotického profilu byla zjištěna rezistence k antibiotikům vancomycinu, kanamycinu a streptomycinu.

## Poděkování

Tato práce vznikla v rámci institucionální podpory VÚM s.r.o., rozhodnutí č. RO 0512.

**Tab. 2** Výsledky vlivu nízkého pH na růst testovaných kmenů *Lbc. plantarum* při absorbanci 630 nm

Kmen CCDM	Q/D 15	C 30	VA 5	AMP 10	TE 30	DA 2	K 30	ST 25	ER 15	CN 30
147	S	S	R	S	S	S	R	R	S	R
178	S	S	R	S	S	S/R	R	R	S	R
181	S	S	R	S	S	S	R	R	S	R
182	S	S	R	S	S	S/R	R	R	S	S/R
183	S	S	R	S	S	S/R	R	R	S	R
188	S	S	R	S	S	S	R	R	S	R
194	S	S	R	S	S	S/R	R	R	S	R
381	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S/R
384	S	S	R	S	S	S	R	R	S	R
388	S	S	R	S	S	S	R	R	S	R
375	S	S	R	S	S	S/R	R	R	S	R
378	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S/R
806	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S/R

6-12 mm - rezistentní (R), 12-16 mm -(R/S), 16 mm <- citlivý (S); Q/D-Quinupristin/Dalfopristin, C-Chloramphenicol, VA - Vancomycin, AMP-Ampicilin, TE-tetracycline, DA-Clindamycin, K-Kanamycin, ST-Streptomycin, E-Erythromycin, CN-Gentamicin

## Literatura

- BURNS, P., VIDEROLA, G., BINETTI, A., QUIBERONI, A., DE LOS REYS-GAVILÁN, C., REINHEIMER, J. (2008): Bile-resistant derivatives from non-intestinal dairy lactobacilli. *International Dairy Journal* (18), s. 377-385.
- DANIELSEN, M., WIND, A. (2003): Susceptibility of *Lactobacillus* spp. To antimicrobial agents. *International Journal of Food Microbiology* (82), s. 1-11.
- DINGH, W. D. A SHAH, N. P. (2007): Acid, bile, and heat tolerance of free and microencapsulated probiotic bacteria. *Food Microbiology and Safety* (72), s. 446-450.
- FAO/WHO (2002): Joint FAO/WHO working group report on drafting guidelines for the Evaluation of probiotics in food. 30. 4. - 1. 5. 2002. Kanada.
- GEERTSEMA-DOORNBUSCH, G., VAN DER MEI, H., BUSSHER, H. (1993): Microbial cell surface hydrophobicity: The involvement of electrostatic interactions in microbial adhesion to hydrocarbons (MATH). *Journal of Microbiological Methods* (18), s. 61-68.
- JENSEN, H., GRIMMER, S., NATERSTAD, K., AXELSSON, L. (2012): In vitro testing of commercial and potential probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology* (153), s. 216-222.
- KOS, B., ŠUŠKOVIC, J., VUKOVIC, S., SIMPRAGA, M., FRECE, M., MATOŠIĆ, S. (2003): Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. *Journal of Applied Microbiobiology* (94), s. 981-987.
- MARGOLLES, A., MAYO, B., RUAS-MONDIEDO, P. (2009): Screening, Identification, and Characterization (Handbook of Probiotics and Prebiotics, Lee Y. L. a Salminen S.), Wiley, New Jersey, s. 4-24.
- MARTIENSSEN, M., REICHEL, O., KOHLWEYER, U. (2001): Surface properties of bacteria from different wastewater treatment plants. *Acta Biotechnologica* (21), s. 207-225.
- MATHUR, S., SINGH, R. (2005): Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria-a review. *International Journal of Food Microbiology* (105), s. 281 - 295.
- MILLS, S., SERRANO, L. M., GRIFFIN, C., O CONNOR, M. P., SCHAAD, G., BRUINING, C. (2011): Inhibitory activity of *Lactobacillus plantarum* LMG P-26358 against *Listeria innocua* when used as an adjunct starter in the manufacture of cheese. *Microbial Cell Factories* (10), s.1-11.
- NAZZARO, F., FRATIANNI, F., ORLANDO, P., COPPOLA, R. (2012): Biochemical traits, survival and biological properties of the probiotic *Lactobacillus plantarum* grown in the presence of prebiotic inulin and pectin as energy source. *Pharmaceuticals* (5), s. 481-492.
- NIKU-PAAVOLA, M. L., LAITILA, A., MATTILA-SANDHOLM, T., HAIKARA, A. (1999): New types of antimicrobial compounds produced by *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Applied Microbiology* (86), s. 29-35.
- O'CONNOR, E., BARRETT, E., FITZGERALD, G., HILL, C., STANTON, C., ROSS, P. (2005): Production of vitamins, exopolysaccharides and bacteriocins by probiotic bacteria. V A. Tamime, *Probiotics Dairy Products* (s. 168-186). Blackwell Publishing Ltd.
- PARVEZ S., MALIK K. A., KANG AH., KIM H.-Y. (2006): Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology* (100), s. 1171-1185.
- RUIZ, F. O., GERBALDO, G., ASURMENDI, P., PASCUAL, L. M., GIOR-DANO, W., BARBERIES, I. L. (2009): Antimicrobial activity, inhibition of urogenital pathogens and synergistic interactions between *Lactobacillus* strains. *Current Microbiology* (59), s. 497-501.
- SALMINEN, M. K., RAUTELIN, H., TYNKKYNYEN S., POUSSA T., SAXELIN M., VALTONEN V., JÄRVINEN A. (2006): *Lactobacillus* bacteria, species identification and antimicrobial susceptibility of 85 blood isolates. *Clinical Infectious Diseases* (42), s. 36-44.
- SCOTT, K. P. (2002): The role of conjugative transposons in spreading antibiotic resistance between bacteria that inhabit the gastrointestinal tract. *Cellular and Molecular Life Sciences*. (59), str. 2071-2082.
- Servin, A. L. (2008). Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiology Reviews* (28), s. 405-450.
- The EFSA Journal (2008). Technical Guidance, Update of the criteria used in the assessment of bacterial resistance to antibiotics of human or veterinary importance, 732. s. 1-15.
- ZAGO, M., FORNASARI, M. E., CARMINATI, D., BURNS, P., SUÁREZ, V., VINDEROLA, G., REINHEIMER, J., GIRAFFA, G. (2011): Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolate from cheeses. *Food Microbiology* (28), s. 1033 -1040.

- ZAVIŠIĆ, G., RADULOVIĆ, Ž., VRANIĆ, V., BEGOVIĆ, J., TOPISIROVIĆ, L., STRAHINIĆ, I. (2011): Characterization and antimicrobial activity of vaginal *Lactobacillus* isolate. *Archives of Biological Sciences, Belgrade* (63), s. 29-35.

Kontaktní informace:

Ing. Ivana Lisová,  
Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6,  
email: lisova@milcom-as.cz

Přijato do tisku 21. 5. 2013

Lektorováno 3. 6. 2013

## FERMENTOVANÉ MLÉČNÉ VÝROBKY S PŘÍDAVKEM SLADŮ

Irena Němečková<sup>1</sup>, Marie Kejmarová<sup>1</sup>, Jana Chramostová<sup>1</sup>,  
Vladimír Zikán<sup>1</sup>, Ivana Laknerová<sup>2</sup>, Ivo Hartman<sup>3</sup>

<sup>1</sup> - Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.

<sup>2</sup> - Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.

<sup>3</sup> - Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s.

### Fermented dairy products with addition of malts

#### Souhrn

Testován byl přídatek sladového výtažku (5 % hm.) nebo zrn zcukřeného sladu (15 % hm.) do mléka a příprava mléčných produktů fermentovaných kulturami mezofilní, jogurtovou nebo probiotickými kmeny *Lactobacillus acidophilus* CCDM 151 nebo *Enterococcus durans* CCDM 922. Zatímco zcukřený slad na kultury žádný významný vliv neměl, sladový výtažek probiotické kmeny dokonce inhiboval. Kromě toho sladový výtažek zhoršoval chuť produktů v průběhu skladování, což mohlo být způsobeno přítomnými proteolytickými a jinými enzymy. U přijatelných produktů byly navrženy receptury a technologie pro jejich výrobu. Jeden z nich, a to produkt se zcukřeným sladem fermentovaný kulturou *Ent. durans*, byl žádoucí pro 73 % hodnotitelů.

**Klíčová slova:** prebiotika, sladový výtažek, zcukření, senzorické hodnocení

#### Summary

Addition of malt extract (5 % w/w) or saccharidificated malt grains (15 % w/w) to milk was tested to form dairy products fermented by mesophilic culture, yoghurt culture or probiotic strains *Lactobacillus acidophilus* CCDM 151 or *Enterococcus durans* CCDM 922. While the saccharidificated malt didn't exhibit any significant influence on the starters, malt extract even inhibited growth of the probiotic ones. Moreover, malt extract deteriorated taste during storage of the product, which could be caused by proteolytic and other enzymes present. Nevertheless, formulas and tech-