

Na obrázcích 5., 6., 7., 8., 9., 10. jsou uvedeny jen tři příklady schémat výrobních postupů a fotografie příslušných produktů, které byly vyvinuty ve Výzkumném ústavu mlékárenském a realizovány v rámci projektů Programu rozvoje venkova.

**Korespondující autor:** Ing. Jan Drbohlav

Výzkumný ústav mlékárenský, s.r.o.

Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha 6

mail: drbohlav@milcom-as.cz

Přijato do tisku: 23. 9. 2018

Lektorováno: 10. 10. 2018

## METABOLISMUS A VÝZNAM BAKTERIÍ MLÉČNÉHO KVAŠENÍ VE FERMENTOVANÝCH MLÉČNÝCH VÝROBCÍCH

Šárka Horáčková, Kristina Bialasová, Milada Pločková

Ústav mléka, tuků a kosmetiky, VŠCHT Praha

### Metabolism and the importance of lactic acid bacteria in fermented dairy products

#### Abstrakt

Předložený článek shrnuje základní poznatky o bakteriích mléčného kvašení a jejich funkcích při výrobě fermentovaných mléčných výrobků. Pozornost je zaměřena na taxonomickou a fyziologickou charakteristiku rodů uplatňujících se při výrobě potravin. Jsou popsány rozdíly v metabolismu sacharidů u homofermentativních a heterofermentativních druhů, dále pak produkty metabolismu bílkovin, lipidů a tvorba exopolysacharidů a antimikrobiálních látek. Význam produktů jednotlivých katabolických a anabolických drah je dán do souvislosti s jednotlivými funkcemi bakterií mléčného kvašení, které plní při výrobě potravin, tj. funkcí technologickou, protektivní a probiotickou.

**Klíčová slova:** bakterie mléčného kvašení, metabolismus sacharidů, antimikrobiální látky, probiotika

#### Abstract

This article summarizes the basic knowledge of lactic acid bacteria and their functions in the production of fermented dairy products. Attention is focused on the taxonomic and physiological characteristics of the genera involved in food production. Differences in carbohydrate metabolism in homofermentative and heterofermentative species are described, as well as products of metabolism of proteins, lipids and formation of exopolysaccharides and antimicrobial agents. The importance of the products of individual

catabolic and anabolic pathways is related to the functions of lactic acid bacteria, which they perform in the production of food, i.e. technological, protective and probiotic functions.

**Key words:** lactic acid bacteria, metabolism of saccharides, antimicrobial compounds, probiotics

#### Úvod

Základ současné klasifikace bakterií mléčného kvašení (BMK) byl položen na začátku 20. stol., kdy tuto skupinu bakterií poprvé popsal prof. Orla-Jensen, který za svou práci získal Nobelovu cenu. Kritéria použitá Orla-Jensenem (morfologie buněk, způsob fermentace glukosy, teplotní rozmezí růstu, rozmanitost fermentovaných sacharidů) jsou dosud pro klasifikaci BMK považována za důležitá. Na základě postupného rozšíření znalostí o vlastnostech BMK, včetně molekulárně biologické charakteristiky, se výrazně rozšířil počet rodů vyhovujících popisu BMK oproti čtyřem původně uváděným Orla-Jensenem, což byly rody *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* a *Streptococcus* (Orla-Jensen, 1919).

Ani v současnosti však neexistuje jednoduchá a jednoznačná definice BMK. Za vhodné se považuje popsat zástupce skupiny na základě výčtu jejich typických vlastností jako Gram-pozitivní, nesporulující, katalasa-negativní koky nebo tyčinky postrádající cytochromy, pocházející z neaerobního prostředí, avšak aerotolerantní, náročné na živiny, acidotolerantní, striktně fermentativní, produkující jako hlavní produkt fermentace sacharidů kyselinu mléčnou. Výskyt BMK je všeobecně spojován s prostředím bohatým na živiny, jako jsou živočišné potraviny (mléko, maso), rostliny (traviny, zelí, olivy). BMK potřebují ke svému růstu fermentovatelné sacharidy, vitaminy, nukleotidy, peptidy a aminokyseliny. Některé druhy jsou součástí přirozené mikroflóry zažívacího traktu a vagíny zvířat i lidí (Von Wright, Axelsson, 2012).

BMK jsou tradičně používány pro zkvašování - fermentaci potravin a krmiv a jsou všeobecně považovány za prospěšné mikroorganismy. Řada kmenů, zvláště z rodu *Lactobacillus*, má potvrzeny probiotické vlastnosti, což znamená, že u nich byl vědeckými studiemi dokázán zdravotní přínos pro konzumenta. Nicméně některé rody (*Streptococcus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*) také obsahují druhy projevující se jako lidské nebo zvířecí patogeny. Aby mohly být plně využity technologické, nutriční a zdravé prospěšné vlastnosti BMK a eliminována potenciální rizika spojená s jejich aplikacemi, je nezbytné důkladně znát taxonomické, metabolické, případně molekulárně biologické charakteristiky BMK.

Podle současné taxonomické klasifikace patří BMK do kmene *Firmicutes*, třídy *Bacilli* a řádu *Lactobacillales*. Šest čeledí (*Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae*, *Streptococcaceae*) obsahuje rody *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Lactococcus* a *Streptococcus*, které se rozlišují na základě

tvaru, produkce CO<sub>2</sub> z glukosy, růstu při 10 °C a 45 °C, růstu při koncentraci 6,5 a 18 % NaCl, růstu při pH 4,4 a 9,6 a typu produkované kyseliny mléčné (L, D, DL) (Von Wright, Axelsson, 2012). Pro výrobu potravin jsou používány rody vyznačené tučně.

## Technologická funkce bakterií mléčného kvašení

Mezi hlavní funkce BMK důležité pro výrobu potravin, potravních doplňků a krmiv patří funkce technologická, protektivní a probiotická. V minulosti byla známa a žádána především technologická funkce, která souvisí se schopností BMK přeměňovat substráty (sacharidy, bílkoviny, lipidy) na metabolity, které ovlivňují chuť, vůni a konzistenci potravin. Protektivní funkce je spojena s produkcí antimikrobiálně aktivních metabolitů (organické kyseliny, diacetyl, acetaldehyd, peroxid vodíku, oxid uhličitý, bakteriociny, deriváty aminokyselin) a zvyšuje bezpečnost potravin a prodlužuje jejich trvanlivost. Probiotická funkce vyplývá z mnoha aktivit BMK chemické, biochemické a mikrobiologické povahy, jejichž výsledkem je pozitivní působení na zdravotní stav a kvalitu života lidí nebo zvířat (Plocková, 2012). Dle WHO jsou probiotika definována jako živé mikroorganismy, které, pokud jsou podávány v adekvátním množství, poskytují konzumentovi - hostiteli zdravotní přínos.

Technologická funkce BMK je především spojena s metabolismem sacharidů, který je u BMK spřažen s fosforylací na úrovni substrátu, čímž poskytuje buňkám ATP nutný pro biosyntézu. Fermentace hexos se uskutečňuje pomocí dvou základních metabolických drah. Homofermentativní rozklad je založen na glykolýze dle Embden-Meyerhof-Parnasovy dráhy a vzniká při ní teoreticky pouze kyselina mléčná. Heterofermentativní rozklad (také známý jako pentoso-fosfoketolasová dráha, hexoso-monofosfátový zkrat nebo 6-fosfoglukonátová dráha) poskytuje kromě kyseliny mléčné významné množství oxidu uhličitého a ethanolu nebo acetátu. V souvislosti s přítomností laktosy v mléce je detailně popsán její metabolismus bakteriemi mléčného kvašení. Laktosa může vstupovat do mikrobiálních buněk buď pomocí specifické bílkoviny - permeasy nebo ve fosforylované formě pomocí tzv. PEP:PTS transportního systému. Jestliže je využit permeasový transport, laktosa je uvnitř buňky štěpena na glukosu a galaktosu pomocí enzymu β-galaktosidasy a vzniklé hexosy jsou následně metabolizovány obvyklými drahami. V případě PEP:PTS transportu je laktosa fosforylována a následně štěpena enzymem fosfo-β-D-galaktosidasou na glukosu a galaktosu-6-fosfát. Glukosa pak vstupuje do glykolytické dráhy, galaktosa-6-fosfát je metabolizována pomocí specifické tagatosa-6-fosfátové dráhy. Některé kmeny *Streptococcus thermophilus* a termofilních laktobacilů nejsou schopné metabolizovat galaktosu a exkretují ji zpět do vnějšího prostředí (Von Wright, Axelsson, 2012).

Podobně jako metabolismus sacharidů je pro aplikaci BMK při výrobě potravin důležitý i metabolismus bílkovin. BMK mají omezenou kapacitu syntetizovat aminokyseliny s využitím anorganických zdrojů dusíku, upřednostňují

proto hydrolyzu proteinových substrátů. Proteolytický systém BMK byl v minulosti popsán u rodu *Lactococcus* ve vztahu k rozkladu kaseinu v mléce, který je štěpen na oligopeptidy různé velikosti pomocí serinové proteasy vázané na buněčnou stěnu. Velké peptidy (4-18 aminokyselin) jsou transportovány do buňky transportním systémem pro oligopeptidy a ABC transportérem, pro di- a tripeptidy existují samostatné transportní systémy. Uvnitř buněk BMK jsou peptidy degradovány na aminokyseliny intracelulárními peptidasami (Liu a kol., 2010). Proteolytický systém BMK je důležitý pro rychlý růst těchto bakterií a pro organoleptické vlastnosti potravin vyráběných pomocí BMK nebo kontaminovaných BMK.

Ve srovnání se sacharolytickou a proteolytickou aktivitou je lipolytická aktivita BMK nízká a méně probádaná. Intracelulární lipasy a esterasy byly nalezeny u rodů *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* a *Leuconostoc*. Enzymovou hydrolyzou triacylglycerolů vznikají volné mastné kyseliny, které mohou být dále transformovány za vzniku hydroxykyselin, laktonů, ethylesterů, thioesterů, alkan-2-onů a alkan-2-olů. Volné mastné kyseliny se 4-10 atomy uhlíku, podobně jako těkavé sloučeniny vznikající při katabolismu mastných kyselin, mají významný vliv na sensorické vlastnosti potravin (Medina a kol., 2004).

Pro potravinářské aplikace BMK má význam i syntéza texturně významných látek jako jsou exopolysacharidy (EPS), které mohou být syntetizovány vybranými kmeny BMK z galaktosových, glukosových a rhamnosových jednotek. Produkce EPS se pozitivně uplatňuje např. při ovlivnění textury fermentovaných výrobků a ochraně buněk BMK před napadením bakteriofágem (Ricciardi, Clementi, 2000). Produkce sensoricky významných látek BMK zahrnuje hlavně organické kyseliny (kyselina mléčná, kyselina octová), aldehydy a ketony (acetaldehyd, diacetyl) a směs těkavých metabolitů vznikajících rozkladem sacharidů, bílkovin a lipidů a jejich vzájemnými reakcemi (Urbach, 1995).

## Protektivní funkce bakterií mléčného kvašení

Pro uplatnění protektivní funkce BMK je důležitá produkce inhibičních látek. Primární inhibiční aktivita BMK je zajištěna produkcí organických kyselin, které v nedisociované formě účinně potlačují růst hnilobných bakterií (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*), bakterií způsobujících onemocnění z potravin (*Salmonella*, *Shigella*, enteropatogenní *E. coli*, *Listeria*) i toxinogenních mikroorganismů (*S. aureus*, plísně potenciálně produkující mykotoxiny). Z ostatních inhibičních látek produkovaných BMK je možno uvést peroxid vodíku, enzymy (lysozym, peroxidasa), nízkomolekulární látky (reuterin, diacetyl), mastné kyseliny, deriváty aminokyselin a peptidy, tzv. bakteriociny. Protektivní funkce BMK se v praxi využívá pro inhibici růstu a přežívání technologicky nežádoucích mikroorganismů a mikroorganismů způsobujících onemocnění z potravin. Kromě produkce inhibičně působících metabolitů zahrnuje mechanismus účinku i kompetici

o substrát a prostor v daném systému. Protektivní kmeny BMK aplikované v praxi musí vykazovat antimikrobiální aktivitu cílenou na nežádoucí mikroorganismy, ale nepůsobící na technologicky žádané mikroorganismy, musí být bez zdravotních rizik (produkce biogenních aminů, přenos rezistence k antibiotikům na nežádoucí mikroorganismy) a mít schopnost adaptace na konkrétní produkt (Leroy, De Vuyst, 2004). Mezi tradičně používané protektivní kmeny BMK patří nisin produkční kmeny *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, kmeny pediokoků produkující pediociny a laktobacily s antibakteriální a antifungální aktivitou (*Lactobacillus rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. casei*).

### Probiotická funkce bakterií mléčného kvašení

Pro uplatnění probiotické funkce BMK se selektují kmeny, které mají původ v intestinálním traktu příjemců probiotik (člověk, zvíře) a schopnost přežít, případně se přechodně pomnožit v trávicím traktu. Kromě hlavní role, spočívající ve stabilizaci mikrobioty trávicího traktu příjemce, mohou probiotické BMK pozitivně působit proti gastrointestinálním infekcím způsobenými viry a bakteriemi, např. patogenním druhem *Clostridium difficile*, zlepšovat stavy po podávání antibiotik, při zánětlivých střevních onemocněních, redukovat obsah sérového cholesterolu, zlepšovat metabolismus laktosy a stimulovat imunitní systém (Shah, 2007). Hlavními zástupci probiotických BMK jsou některé kmeny *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum* a *Enterococcus faecium*. Probiotické účinky BMK jsou vždy kmenově specifické. Některé pozitivní efekty probiotických BMK byly dobře prokázány *in vitro*, některé *in vivo* na zvířatech i lidech, nicméně další výzkum v této oblasti je nezbytný.

### Čisté kultury bakterií mléčného kvašení pro fermentované výrobky

Pro výrobu fermentovaných mléčných výrobků má z hlediska technologie z výše uvedených vlastností BMK největší význam metabolismus laktosy, v menší míře pak rozklad bílkovin. BMK se v průmyslu používají ve formě čistých mlékařských kultur, které mohou být ve formě tekuté, lyofilizované nebo hluboce mražené. Nejčastěji se setkáváme s jogurtovou kulturou (*Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) v jogurtech a jogurtových mlékách, se smetanovou kulturou (směs druhů rodu *Lactococcus* a *Leuconostoc*) v kysaných mlékách, smetanových zákysech, v zakysaných smetanách a v kysaném podmásle, s acidofilní kulturou (*Lactobacillus acidophilus*) či tzv. ABT kulturou, která kromě *L. acidophilus* a *Streptococcus thermophilus* obsahuje ještě prospěšné bifidobakterie. Bakterie mléčného kvašení jsou využívány rovněž pro výrobu kefirů a kefirových mlék. Řada výrobců v současné době používá zvláště do jogurtů přídatnou kulturu - probiotické kmeny bifidobakterií nebo laktobacilů, u kterých byl testován jejich zdravotně prospěšný účinek.

Benefity fermentovaných mléčných výrobků byly prokázány v řadě studií (Babion a kol., 2015; Marco a kol., 2017), a proto je možné jejich konzumaci jednoznačně doporučit.

### Literatura:

- BABION N. a kol. (2015): Consumption of yogurt, low-fat milk and other low-fat dairy products is associated with lower risk of metabolic syndrome incidence in an elderly mediterranean population. *J. Nutr.* 145, 2308-23016.
- LEROY F., DE VUYST L. (2004): Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Sci. Technol.* 15, 67-78.
- LIU M., BAYJANOV J.R., RENCKENS A., SIEZEN R.J. (2010): The proteolytic system of lactic acid bacteria revisited: A genomic comparison. *BMC Genomics* 11, s. 36.
- MARCO M.L. a kol. (2017): Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Curr. Opin. Biotechnol.* 44, 94-102.
- MEDINA R.B., KATZ M.B., GONZÁLES S., OLIVER G. (2004): Determination of esterolytic and lipolytic activities of lactic acid bacteria. *Methods Mol. Biol.* 286, 465-70.
- ORLA-JENSEN S. (1919): *The Lactic Acid Bacteria*. Host and Son, Copenhagen.
- PLOCKOVÁ M. (2012): Zákysové kultury a způsoby jejich aplikace. V knize *Přehled tradičních potravinářských výrob* (Kadlec. P., Melzoch K., Voldřich M. a kol. Eds.) s. 262-269, KEY Publishing s.r.o. Ostrava.
- RICCIARDI A., CLEMENTI F. (2000): Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: structure, production and technological applications. *Ital. J. Food Sci.* 12, 23-45.
- SHAH P.N. (2007): Functional cultures and health benefits. *Int. Dairy Journal* 17, 1262-1277.
- URBACH G. (1995): Contribution of lactic acid bacteria to flavor compound formation in dairy products. *Int. Dairy J.* 5, 877-903.
- VON WRIGHT A., AXELSSON L. (2012): V knize *Lactic Acid Bacteria, Microbiological and Functional Aspects 4<sup>th</sup> ed.* (Lahtinen S., Ouwehand A.C., Salminen S., Wright von A. Eds.) s. 2-16, CRC Press, Boca Raton, London, New York.

**Korespondující autor:** Ing. Šárka Horáčková, CSc.

Ústav mléka, tuků a kosmetiky, VŠCHT Praha

Technická 5, 166 28 Praha 6

Mail: sarka.horackova@vscht.cz

Přijato do tisku: 23. 9. 2018

Lektorováno: 10. 10. 2018

## NUTRIČNÍ ASPEKTY KONZUMACE SÝRŮ

**Květoslava Šustová**

Vysoká škola obchodní a hotelová s.r.o., Brno,  
Katedra gastronomie a hotelnictví

### Nutritional aspects of cheese consumption

#### Abstrakt

Článek shrnuje dosavadní poznatky o nutričních benefitech konzumace sýrů. Sýry jsou nejen dobrým zdrojem kvalitní bílkoviny, ale také vápníku, hořčíku, zinku a vitamínů A, E, D a K. Z hlediska výživy je zajímavý také obsah