

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra kvality zemědělských produktů**



**Mléčné vysokotučné produkty s obsahem probiotik**

**Bakalářská práce**

**Autor práce: Kateřina Šebestová**

**Vedoucí práce: Ing. Miroslava Potůčková**

© 2016 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Mléčné vysokotučné produkty s obsahem probiotik" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne \_\_\_\_\_

### **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí práce Ing. Miroslavě Potůčkové za vedení mé bakalářské práce, za odbornou i stylistickou pomoc.

# Mléčné vysokotučné produkty s obsahem probiotik

## Souhrn

Cílem bakalářské práce bylo shrnout současné poznatky týkající se aplikace probiotických kultur mikroorganismů do vysokotučných potravinářských matric, mléčných i nemléčných, a zjistit jejich potenciál pro vývoj probiotických sušenek. Probiotika jsou definována jako živoucí mikroorganismy, které po požití v určitém množství poskytují konzumentovi zdravotní výhody nad rámec základní výživy. Lze je požívat ve formě běžně dostupných potravin s přidanou hodnotou nebo výživových doplňků. Nejčastěji potravinářsky využívané kmeny probiotických mikroorganismů jsou bakterie mléčného kvašení (*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* sp.). Mezi jejich prospěšné účinky na lidský organismus patří mimo jiné imunostimulační, antibiotický, antihypertenzní, hypocholesterolemický, antikarcinogenní, antialergenní a antidiabetický účinek a zmírňování projevů laktózové intolerance.

Jako nosiče probiotických kmenů bakterií mléčného kvašení byly s výhodou vyzkoušeny různé mléčné i nemléčné matrice s vysokým obsahem tuku. Z nemléčných produktů lze jmenovat dresink, potenciál má také čokoláda. Nejčastěji jsou ale probiotika inkorporována do mléčných výrobků. Tradičními nosiči jsou fermentované mléčné produkty, zejména jogurt, tvarohy a sýry. Stále oblíbenější jsou také probiotické mražené krémy. Probiotický kmen *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LBC 82 pak byl úspěšně použit při výrobě smetanového dezertu.

Práce zabývající se vývojem probiotických sušenek dosud nejsou k dispozici. Na základě výsledků dostupných studií lze však předpokládat, že matricemi vhodnými pro tento účel jsou sušenkové náplně na smetanovém, jogurtovém a tvarohovém základu a čokoláda ve formě složky sušenkového těsta, náplně či polevy.

**Klíčová slova:** funkční potraviny, máslo, mléčné tukové výrobky, probiotika, plněné sušenky

# Probiotic high-fat dairy products

## Summary

The aim of this bachelor thesis was to summarise the current knowledge about application of probiotic culture of microorganisms into high-fat food matrixes (dairy or non-dairy) and their potential for development of probiotic cookies. Probiotics are defined as living microorganisms which provide specific health benefits when consumed in a certain amount. They could be consumed in the form of commercially available food with added value or as nutritional supplements. The most common strains of probiotic microorganisms used in food industry are lactic acid bacteria (*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* sp.) Their beneficial effects include immunostimulatory, antibiotic, antihypertensive, hypocholesterolemic, anticarcinogenic, anti-allergenic and antidiabetic effects and decrease of lactose intolerance symptoms.

As food carriers for probiotic strains of lactic acid bacteria were successfully tested some high-fat dairy or non-dairy matrixes. Non-dairy probiotic carriers with high potential include dressing and chocolate. However, the most common probiotic carriers are dairy products. Traditional are fermented dairy products, especially yogurt, quark and cheese. Increasingly popular are also probiotic ice creams. Probiotic strain *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LBC 82 was successfully used for production of cream chocolate mousse.

Unfortunately, studies which are focused on probiotic cookies development are currently not available. However, based on the available results about high-fat probiotic carriers, it could be presume that suitable matrixes for probiotic cookie filling would be cream, yogurt and fresh cheese. High potential has also chocolate in the form of chocolate chips, filling or glaze.

**Keywords:** Functional food, butter, high-fat dairy products, probiotics, filled cookies

# Obsah

<b>1 Úvod .....</b>	<b>7</b>
<b>2 Přehled literatury .....</b>	<b>8</b>
<b>2.1 Probiotika .....</b>	<b>8</b>
2.1.1 Mechanismus působení probiotik .....	9
2.1.2 Potravinářsky využívané kmeny probiotik .....	10
2.1.3 Prospěšné účinky probiotik na lidský organismus .....	12
2.1.3.1 Infekční onemocnění .....	13
2.1.3.2 Antihypertenzní a hypocholesterolemický účinek .....	15
2.1.3.3 Laktózová intolerance .....	15
2.1.3.4 Pseudomembranózní enterokolitida .....	17
2.1.3.5 Rakovina tlustého střeva .....	17
2.1.3.6 Alergie .....	18
2.1.3.7 Diabetes mellitus .....	19
<b>2.2 Využití probiotik v potravinářství .....</b>	<b>20</b>
2.2.1 Vysokotučné nemléčné potraviny vhodné jako nosiče pro probiotika ....	21
2.2.1.1 Čokoláda .....	21
2.2.1.2 Dresink .....	22
2.2.2 Mléčné vysokotučné produkty vhodné jako nosiče pro probiotika .....	23
2.2.2.1 Dělení mléčných produktů .....	23
2.2.2.2 Jogurt .....	24
2.2.2.3 Tvaroh a sýr .....	26
2.2.2.4 Smetanový dezert .....	29
2.2.2.5 Mražený krém .....	31
<b>2.3 Sušenky jako potenciální nosič probiotik .....</b>	<b>34</b>
2.3.1 Technologie výroby sušenek .....	35
2.3.2 Sušenková náplň .....	37
<b>3 Závěr .....</b>	<b>39</b>
<b>4 Seznam literatury .....</b>	<b>40</b>
<b>5 Zkratky .....</b>	<b>46</b>

# 1 Úvod

Současná doba je charakteristická celosvětově rostoucím výskytem civilizačních onemocnění populace. Jedním z cílů potravinářského průmyslu je proto vyvinout nové druhy výrobků a alternace tradičních produktů, jež by působily proti rozvoji těchto chorob preventivně. Mezi obvyklé postupy patří snižování obsahu soli, cukru a nasycených mastných kyselin v potravinách, případně jejich obohacení o funkční složky jako jsou vitamíny, stopové prvky,  $\omega$ -3 nenasycené mastné kyseliny, vláknina a v neposlední řadě též probiotika. Právě prospěšné účinky probiotických kmenů mikroorganismů na lidské zdraví, mezi něž patří například zmírňování projevů laktóзовé intolerance a alergií, antibiotický, antidiabetický, antihypertenzní, antikarcinogenní, hypocholesterolemický a imunostimulační účinek, zapříčinili jejich vysokou oblíbenost jako složky výrobků s přidanou hodnotou.

Rostoucí poptávka spotřebitelů po potravinách vhodných k okamžité konzumaci s dlouhou dobou skladovatelnosti měla za následek vývoj širokého portfolia sušenek a oplatků. Díky své vysoké oblíbenosti a celosvětovému rozšíření tvoří tyto produkty zajímavou kategorii pro obohacení funkčními složkami a tedy i probiotickými kulturami. Pro zhodnocení vhodnosti sušenek a oplatků stát se nosičem probiotik je třeba posoudit vitalitu těchto mikroorganismů ve vysokotučných matricích, které lze použít pro výrobu sušenkových náplní, polev a složek těsta.

## 2 Přehled literatury

### 2.1 Probiotika

Termín „probiotický“ je relativně novým slovem znamenajícím "pro život" (Bartošová, 2009). Začátek používání termínu „probiotika“ je datováno od roku 1974, kdy ho Parker použil k popisu potravinových doplňků, speciálně navržených pro zlepšení zdraví hospodářských zvířat. Definoval ho jako: „Organismy a substance, které přispívají ke střevní mikrobiální rovnováze.“ Nedávno byla tato definice revidována na: „živé mikrobiální doplňky, které prospěšně působí na hostitele tím, že zlepšují jeho mikrobiální rovnováhu“, aby byla zdůrazněna důležitost životaschopnosti a nebyl obsažen příliš široký pojem „látky“, do něž by se dala zahrnout i antibiotika (Fuller, 1991). Z výživového hlediska jsou probiotika charakterizována jako: „živoucí mikroorganismy, které po požití v určitém množství poskytují zdravotní výhody nad rámec vlastní základní výživy.“ Podle této definice mohou být probiotika konzumována buď jako komponent stravy nebo jako výživový doplněk (Guarner and Schaafsma, 1997).

Tyto mikroorganismy jsou tu s námi tak dlouho, jak dlouho lidé jedí fermentované výrobky, ale jejich spojení s výhodami pro zdraví je datováno pouze od přelomu století, kdy Mečnikov (1907) přitáhl pozornost k nežádoucímu účinku patogenních změn střevní mikroflóry na hostitele a navrhl, že přijímání kysaných výrobků zlepšuje tuto tzv. autointoxikaci (Fuller, 1991). Vznik rezistence zdraví škodlivých bakterií k antibiotikům a hledání přirozené cesty k potlačení patogenů také přispělo ke konceptu probiotik (Kailasapathy and Chin, 2000).

Jejich základním mechanismem působení je navození příznivého prostředí ve střevě s podporou růstu bakterií kvasných a potlačení růstu hnilobných bakterií, kvasinek a plísní. Tomuto působení napomáhá přítomnost prebiotik, tedy pro lidský organismus nestravitelných složek potravy (např. některých druhů vlákniny), jež selektivně stimuluje jejich růst anebo aktivitu (Grofová, 2010).

Neexistuje jeden soubor vybraných kritérií pro klasifikaci živých bakteriálních kmenů jako probiotik. Běžná kritéria používaná pro izolaci a identifikaci probiotických kmenů zahrnuje následující kritéria: lidský původ druhu, stabilitu vůči žluči, kyselině HCl, trávicím enzymům a kyslíku, schopnost adherence na střevní mukózu, potenciál kolonizace lidského gastrointestinálního traktu, produkci antimikrobiálních látek, vykazatelný pozitivní účinek na lidský organismus a zdravotní bezpečnost (Kailasapathy and Chin, 2000).



### 2.1.1 Mechanismus působení probiotik

Současný stav vědomostí o střevní mikroekologii navrhuje čtyři možnosti, jak mohou probiotika fungovat. Jedná se o

#### 1) Produkce antimikrobiálních látek

Probiotika produkující antimikrobiální látky by mohla snižovat počty životaschopných patogenních buněk intestinálních bakterií, ovlivnit jejich metabolismus nebo produkci toxinů. Studie provedená na gnotobiotických myších s určitou patogenní střevní mikroflórou ukázali, že ačkoliv se probiotickým mikroorganismům zavedeným do jejich gastrointestinálního traktu nepodařilo odstranit *Clostridium difficile*, ochránili ji proti zánětu střev a pravděpodobně potlačovali produkci klostridiálního toxinu.

#### 2) Schopnost adherence na střevní stěnu

V současnosti se ukazuje, že pokud chtějí osídlit střevo a způsobit nemoc, intestinální patogeny musí být většinou schopny přilnout na střevní stěnu. V důsledku toho, byli některé probiotické kmeny zkoumány pro svou schopnost adherovat k epiteliální stěně a tedy kompetitivně potlačovat patogeny.

#### 3) Souboj o živiny

Střevo je pro mikroorganismy bohatým zdrojem nutrietů, že se zdá až nepravděpodobné, že je to cesta, kterou střevní mikroflóra obohacuje svojí vlastní stavbu. Pokud je však v gastrointestinálním traktu nedostatek jen jedné pro probiotika důležité živiny, může být jejich růst limitován.

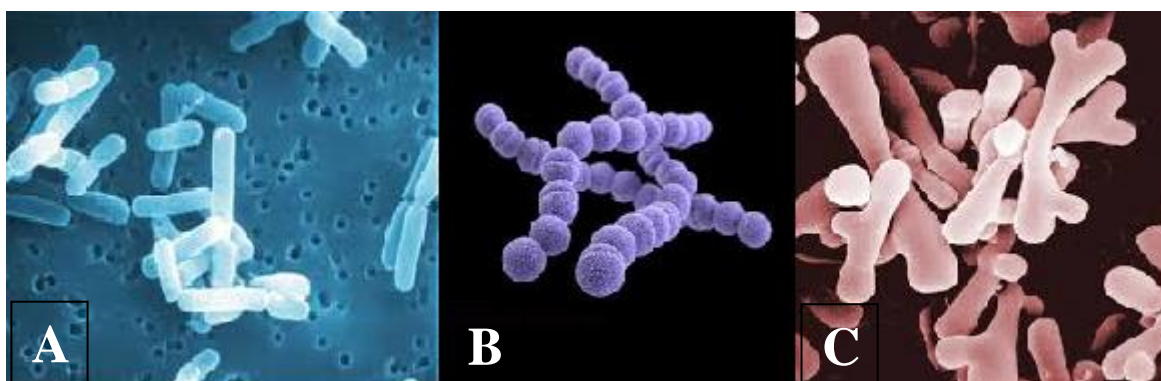
#### 4) Stimulace imunity

Zajímavé zjištění v posledních letech bylo, že orálně přijímané laktobacily, mohou stimulovat makrofágy a jejich aktivitu proti několika různým druhům bakterií. Například *Lactobacillus casei* podávaný myším orálně, zvýšil fagocytární aktivitu. Pozorovaný účinek je pravděpodobně způsoben buď absorpcí rozpustného antigenu nebo přenosem laktobacilů do krevního řečiště. Bylo zaznamenáno, že laktobacily vpravené intravenózně přežívaly v játrech, slezině a plicích (Fuller, 1991).

### 2.1.2 Potravinářsky využívané kmeny probiotik

V posledních letech stále vzrůstá zájem o některé kmeny bakterií mléčného kvašení, u kterých bylo navrženo nebo dokázáno, že poskytují specifické zdravotní výhody, když jsou konzumovány jako potravinové doplňky nebo komponenty potravy. Avšak názory se velmi liší s ohledem na podmínky potřebné k doložení požadavku na prospěšný účinek daných bakteriálních kmenů, a zatím neexistuje žádný celosvětový konsens na to, jak definovat a prověřit životaschopné kmeny mikroorganismů jako probiotika (Guarner and Schaafsma, 1997).

Probiotické přípravky, které se v současné době vyskytují na trhu, obsahují zejména bakterie mléčného kvašení – *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* sp. (viz obr. 1).



Obrázek 1: Příklad kmenů bakterií mléčného kvašení, jejichž vybraní zástupci jsou řazeni mezi probiotika. A = *Lactobacillus* sp. (<http://www.solarfarma.com/uploads/content/1343472913.jpg>); B = *Streptococcus* sp. (<https://www.flickr.com/photos/ajc1/4197076733/>); C = *Bifidobacterium* sp. (<http://www.bacteriainphotos.com/photo%20gallery/streptococcus%20pyogenes%203D.jpg>).

Bylo prokázáno, že tyto tři rody jsou součástí lidské gastrointestinální mikroflóry a jsou relativně neškodné. Kmeny bakterií mléčného kvašení užívané na výrobu těchto potravinových doplňků jsou většinou intestinální izoláty jako *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei* a *Bifidobacterium bifidum*. Dále jsou také zahrnovány zástupci jogurtové kultury (*Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*), protože jogurt byl v minulosti spojován s prospěšnými účinky na zdraví konzumentů (Fuller, 1991). Méně často jsou používány kmeny *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* a *Saccharomyces cerevisiae* var. *bouardii* (viz obr. 2). Probiotika se na trhu objevují jako doplňky stravy nebo

jako složka funkčních potravin, ale i jako součást krmiv hospodářských zvířat pro prevenci gastrointestinálních infekcí (Bengmark, 1998).



Obrázek 2: Příklad dalších méně často užívaných kmenů probiotik. **A** = *Enterococcus faecium* (<http://petnet-wp.s3.amazonaws.com/wp-content/uploads/2014/03/Enterococcus-Faecium-L.jpg>); **B** = *Escherichia coli* ([www.dangeralimentaires.com](http://www.dangeralimentaires.com)); **C** = *Saccharomyces cerevisiae* var. *Boulardii* (<http://www.rochway.com.au/media/wysiwyg/saccharomyces-boulardii.jpg>).

Mezi probiotickými mikroorganismy se objevují i kmeny, které zcela nesplňují kritéria kladená na probiotika, k nimž se bezesporu řadí zástupci sporulujících rodů *Bacillus* a *Sporolactobacillus*. Výhodou oproti "klasickým" probiotickým mikroorganismům je ovšem rezistence jejich spor ke stresovým podmínkám, což zaručuje, že tyto bakterie mohou snadněji projít gastrointestinálním traktem a v komerčních preparátech mohou zůstat životaschopné po dlouhou dobu bez potřeby uchování za nízkých teplot (Horáčková, 2010).

Jedním z důležitých požadavků na probiotické kmeny mikroorganismů, aby mohly být použity při výrobě potravin, je potřeba udržet si životaschopnost a aktivitu v potravinové matrici před konzumací. Vhodnými nosiči jsou například fermentované mléčné výrobky, jejichž pufovací schopnost poskytuje ochranu mikroorganismům v gastrointestinálním traktu. Bakteriální kmeny, které jsou používány do probiotických potravinářských výrobků, musí plně splňovat tyto požadavky:

- 1) Přežít kyselé podmínky žaludku (pH 1 – 4).
- 2) Být rezistentní k aktivitě žlučových solí.
- 3) Být rezistentní k degradaci trávicími enzymy, které jsou přítomné v tenkém střevě.
- 4) Přežít aktivitu toxických metabolitů, v první řadě fenolů, produkovaných během trávicího procesu, antibiotik a fágů, při anaerobních podmínkách a podmínkách skladování nosiče (Kailasapathy and Chin, 2000).

Tyto probiotické bakterie jsou v potravíně ve formě životaschopných buněk, kterých je k jejich účinku potřeba poměrně velké množství. Kultury musí být nejen schopny odolat kyselému prostředí žaludku, ale také je nutné, aby se poté ve střevě množily. Jejich působení musí být charakterizovatelné například zvýšením odolnosti konzumenta vůči některým patogenním mikroorganismům (Bartošová, 2009). Schopnost probiotik osidlovat tlusté střevo je však často velice nejistá, ačkoliv přežívají a zůstávají životaschopné po celou dobu průchodu gastrointestinálním traktem. Ve většině případů je tedy nutné pokračovat s pravidelným přijímáním potravy obsahující probiotické kultury, spíše než předpokládat, že pár dávek umožní mikroorganismům osídlit střevo permanentně (Fuller, 1991). Výběr vhodných probiotik je také uskutečňován se zřetelem na jejich schopnost vytvořit příznivé organoleptické vlastnosti (tj. chuť, vůni apod.) produktů. Například nadměrný růst bifidobakterií může způsobit v důsledku nadprodukce kyseliny octové octovou příchut' výrobků (Bartošová, 2009).

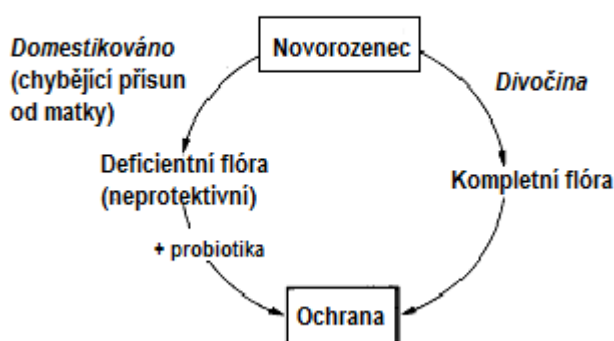
Vzhledem k tomu, že minimum terapeutické dávky denně je navrženo na  $10^8 - 10^9$  KTJ/ml, je tedy běžné, že probiotické produkty prodávané v EU s jakýmkoli nárokem na zlepšení zdraví spotřebitelů, musí dodržovat kritérium minimálního obsahu  $10^6$  KTJ/ml živých buněk k datu spotřeby (Kailasapathy and Chin, 2000).

### **2.1.3 Prospěšné účinky probiotik na lidský organismus**

Již Metčnikov ve svém pojednání *The Prolongation of Life* (1908) uvažoval, že na dlouhověkosti Bulharů se částečně podílí jejich konzumace velkého množství fermentovaných mlék obsahujících laktobacily. Tato hypotéza vedla k zintenzivnění snahy objasnit roli kultur bakterií mléčného kvašení a fermentovaných mléčných výrobků při zmírňování lidských i zvířecích gastrointestinálních poruch (Kailasapathy and Chin, 2000).

Ačkoli v přirozeném prostředí se ochranná střevní mikroflóra vyvíjí do značné míry automaticky a není zde potřeba probiotických doplňků stravy, jak je schematicky znázorněno na obr. 3. V současnosti žijí lidé a hospodářská zvířata však spíše v poněkud nepřirozených podmínkách (Fuller, 1991). Je stále více evidentní, že velké množství lidských civilizačních onemocnění je často spojeno s nezdravým životním stylem a teoreticky bychom jim tedy měli být schopni předejít. Stres moderního života, snižující se fyzická aktivita a konzumace nevyvážené stravy přispívají ke zvýšení rizika rozvoje různých chorob, jež jsou způsobeny nebo podpořeny změnami přirozené střevní mikroflóry. (Bengmark, 1998). Také příjem nadměrného množství antibakteriálních látek, sahajících od vinného octa po antibiotika, intestinální mikrobiotě neprospívá (Fuller, 1991).

### Probiotika v člověku a zvířeti



Obrázek 3: Schematické znázornění rozdílu ve vývoji ochranné střevní mikroflóry v přirozeném a modifikovaném prostředí (Fuller, 1989).

Ukazuje se, že udržováním příznivého mikrobiálního osídlení střeva lze dosáhnout pozitivních účinků na organismus jako celek. K tomu přispívá strava s dostatečným množstvím vlákniny, zejména rozpustné, zakysaných mléčných výrobků a dalších kvašených potravin obsahujících probiotické kmeny mikroorganismů. Ani přípravkům s probiotiky však nelze upřít jejich význam v prevenci a léčbě nemocí (Grofová, 2010).

#### 2.1.3.1 Infekční onemocnění

Ve volné přírodě získávají mláďata živočichů svoji střevní mikroflóru od matky a okolí. Matka je nejdůležitějším zdrojem neboť má důvěrný kontakt s mládětem a již během porodu mu poskytuje bakterie, které jsou adaptovány na růst v intestinálním traktu. Z tohoto důvodu je veliké úsilí věnováno právě ochraně přenosu mikroorganismů z matky na novorozence v nemocničním prostředí. Pokud je kontakt s matkou přerušen císařským řezem a mládě je navíc udržováno v inkubátoru, výskyt intestinálních mikroorganismů ve střevě je měřitelně redukován (Fuller, 1991).

Po dýchací soustavě má lidský gastrointestinální trakt druhou největší plochu, s odhadovanou rozlohou mezi 250 – 400 m<sup>2</sup>, je tedy přirovnáván k tenisovému kurtu. Během běžné délky našeho života, projde tímto orgánem zhruba 60 t potravy. Není tedy překvapivé, že trávicí trakt bývá velmi často zasažen infekčními a zánětlivými nemocemi nebo rakovinou (Bengmark, 1998).

Prospěšný účinek probiotik je vysvětlován tím, že střevní mikroflóra poskytuje organismu ochranu proti různým chorobám. Probiotické bakterie patří k přirozené intestinální flóře a vyznačují se nízkou patogenitou. Podpora růstu tohoto typu mikroorganismů je

důležitá při prevenci různých onemocnění, respektive infekcí. Bylo prokázáno, že živočichové, jejichž gastrointestinální trakt přirozený mikrobiom neobsahuje, jsou citlivější k nemocím, více než jejich protějšky, kteří mají kompletní střevní mikroflóru (Fuller, 1991; Bengmark, 1998).

Probiotika mohou regulovat a inhibovat růst různých enterálních patogenů jako *Salmonella typhimurium*, *Shigella*, *Clostridium difficile*, *Campylobacter jejuni* a *Escherichia coli*. Také mohou poskytovat důležitou ochranu proti urogenitálním patogenům, například kmenům *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides bivius*, *Candida albicans* a *Chlamydia trachomatis*. Probiotické mikroorganismy mohou být tedy účinným pomocníkem pro prevenci a léčbu mnoha mikrobiálních nemocí (Bengmark, 1998).

V řadě studií byl publikován příznivý účinek probiotik na průjemy. Průjmovým onemocněním u dětí v Japonsku bylo zabráněno tím, že jim byly podávány mléčné výrobky, které obsahovaly velké množství bifidobakterií. Použití kmenů *Lactobacillus* sp. bylo navrženo jako prevence a léčba průjmových infekcí, které byly způsobené bakteriemi *Escherichia coli*, *Salmonella* nebo *Shigella*. Pozitivní účinek laktobacilů lze vysvětlit produkcí bakteriocinů. *Lactobacillus* GG v jogurtu byl využit k léčbě průjmu, který vznikal při užívání antibiotik. Dobrovolníci užívající probiotika s erythromycinem trpěli problémy méně než kontrolní skupina, která konzumovala pasterované jogurty (Kailasapathy and Chin, 2000; Klu et al., 2014).

#### 2.1.3.1.1 Využití jako antibiotika

V roce 1877 Pasteur a Joubert objevili antagonistickou interakci mezi některými bakteriálními kmeny a na přelomu století Mečnikov diskutoval možnosti léčby intestinálních poruch pomocí střevu prospěšných mikroorganismů. Během posledních 50 let se však zájem zaměřil na užívání chemoterapeutik a antibiotik. Důvody pro současné obnovení zájmu o kontrolu střevních infekcí pomocí zdravé intestinální mikroflóry, zahrnují následující body:

- 1) Zjištění, že léčba antibiotiky není úspěšná v takové míře jak bylo očekáváno.
- 2) Uvědomění si faktu, že léčba antibiotiky narušuje ochranou střevní flóru a činí organismus náchylnější k dalším infekcím.
- 3) Zvyšující se obavy z rezistence k antibiotikům jako výsledek jejich všeobecně rozšířeného častého předepisování a užívání (Bengmark, 1998).

### 2.1.3.2 Antihypertenzní a hypocholesterolemický účinek

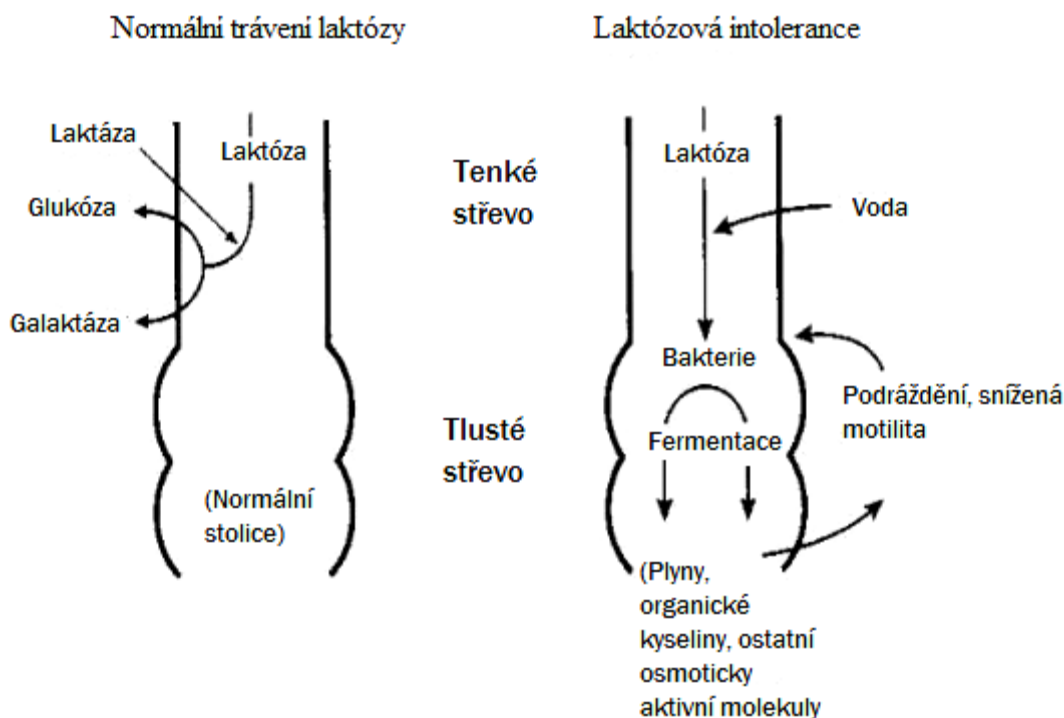
Probiotika jsou primárně spojována hlavně s pozitivními účinky na trávicí trakt. Výsledky současným studií také ukazují, že hrají důležitou roli v metabolických poruchách, které vedou k hypertenzi. Diskutována je schopnost modulovat lipidový profil, působit na hladinu inzulínu, reninu a pohlavních hormonů. Snížení množství sérového cholesterolu a zlepšení profilu krevních lipidů vede ke snížení rizika hypertenze. V roce 1974 zjistili Mann a Spoerry, že mléko fermentované laktobacily mělo hypocholesterolemický efekt. Podobné účinky později prokázaly také bifidobakterie, u nichž bylo zaznamenáno, že její konzumace znatelně snižují hladinu sérového cholesterolu. Mechanismem může být pravděpodobně asimilace cholesterolu bakteriemi v tenkém střevě, jeho zabudování do buněčné stěny nebo schopnost enzymaticky dekonjugovat žlučové kyseliny (Grofová, 2010).

Bylo zjištěno, že *Lactobacillus acidophilus* je schopen dekonjugovat žlučové soli na volné kyseliny, které jsou pak vylučovány mnohem rychleji z trávicího traktu než původní sloučeniny. Díky tomu je navíc nutná syntéza nových žlučových kyselin z cholesterolu, čímž je redukována celková koncentrace této látky v těle (Kailasapathy and Chin, 2000).

### 2.1.3.3 Laktózová intolerance

Laktázová nedostatečnost znamená, že koncentrace enzymu  $\beta$ -D-galaktosidázy štěpícího laktózu, triviálně laktázy, jež je syntetizován v kartáčovém lemu mukózy tenkého střeva, je nízká nebo není produkována vůbec. Tento stav způsobuje neschopnost trávení laktózy, fenomén nazývaný také laktózová malabsorbce nebo laktózová maldigestce (de Vrese et al., 2001). Schéma procesů trávení laktózy v lidském těle tolerantních a intolerantních pacientů znázorňuje obr. 4.

Velká část světové populace je laktózově intolerantní. Schopnost vytvářet dostatečné množství enzymu zodpovědného za trávení laktózy, ačkoli je přítomná v kojeneckém období, vymizela po přechodu na normální stravu. V místech, kde mléko nepředstavuje základní potravinu, nezpůsobuje laktózová nesnášenlivost žádné problémy, ale když tito lidé migrují do Evropy nebo USA, problémy nastanou, protože příjmu laktózy v potravinách je těžké se vyhnout. Dle závažnosti nedostatku  $\beta$ -D-galaktosidázy však tito lidé mohou tolerovat laktózu v kysaných mléčných výrobcích lépe než to samé množství v mléce. Ačkoli mechanismus zatím nebyl zcela objasněn, bylo navrženo, že fermentované mléčné produkty jsou zdrojem předem vytvořené laktázy a bakterií, které laktázu produkují, když se dostanou do tenkého střeva (Fuller, 1991).



Obrázek 4: Schematické znázornění trávení laktózy za normálních podmínek a při laktózové intoleranci (<http://www.rayur.com/wp-content/uploads/2012/07/Lactose-Intolerance.jpg>).

Aktivita mikrobiální  $\beta$ -D-galaktosidázy zůstává nedotčena při průchodu žaludeční částí trávicího traktu a enzym je poté uvolněn žlučovými solemi do tenkého střeva, kde podporuje trávení laktózy. Dalším mechanismem je pak zpomalení vyprazdňování žaludku a průchodu tráveniny stěvem, což prodlužuje dobu působení zbytků  $\beta$ -D-galaktosidázy, produkované (ačkoli v nižší míře) v tenkém střevě a snižuje tak pacientům osmotickou zátěž laktózy. Krátkodobé a dlouhodobé přijímání laktózy a bakterií ve fermentovaných mléčných produktech může navíc působit na střevní pH a ostatní proměnné intestinálního prostředí a může tedy zmírnit příznaky laktózové intolerance nebo ostatních gastrointestinálních poruch (de Vrese et al., 2001).

Ne všechny probiotické kmeny mikroorganismů jsou však schopny uvolňovat laktázu do tenkého střeva. Tento jev byl pozorován například u některých zástupců *Lactobacillus acidophilus* a probiotických i neprobiotických bifidobakterií (de Vrese et al., 2001; Fuller, 1991).



Schopnost uvolňovat enzym byla naopak prokázána u *Bifidobacterium angulatum* a v nižší míře u *B. breve* a *B. longum* (Kailasapathy and Chin, 2000). Ke zlepšení trávení laktózy přispívají také dodatečná ošetření fermentovaných výrobků, která vedou k destrukci buněk kultur v nich obsažených, například ultrazvuk, neboť uvolní  $\beta$ -D-galaktosidázu.

Pokusy na zvířatech indikovaly, že typ mlékárenského zákysu také hraje při laktóзовé intoleranci významnou roli. Kefírové kultury trávení laktózy zlepšovaly. Konzumace podmáslí, jež je fermentováno naopak smetanovou kulturou, byla následována mnohem větší exhalací vodíku než při konzumaci jogurtu, který má tradičně pozitivní vliv, a byla porovnatelná s konzumací pasterovaného jogurtu bez živých mikroorganismů (de Vrese et al., 2001).

#### 2.1.3.4 Pseudomembranózní enterokolitida

Pseudomembranózní enterokolitidu (PE), způsobovanou *Clostridium difficile*, lze léčit podáváním fekálního klystýru od zdravých dospělých. Je to proto, že odolnost k této nemoci je závislá na přítomnosti správné flóry ve střevě. Bylo dokázáno, že určité kmeny laktobacilů jsou účinné v prevenci relapsu u pacientů s PE, kteří byli léčeni antibiotiky. Konzumací kmenu *Lactobacillus* GG byl například zastaven recidivní průjem, způsobený toxin produkujícím kmenem *C. difficile*. Jiné studie zaznamenaly úspěch při podávání nepatogenních kmenů *C. difficile*, které pravděpodobně obsazují stejnou niku jako patogenní, čímž si navzájem konkurují. Použití probiotik v léčbě PE má také potenciál, protože senzibilizované skupiny mohou být včas identifikovány a léčba může být započata před počátkem propuknutí nemoci (Fuller, 1991; Kailasapathy and Chin, 2000).

#### 2.1.3.5 Rakovina tlustého střeva

V literatuře je též zaznamenán pravděpodobný pozitivní účinek probiotik při prevenci rakoviny tlustého střeva. Antinádorové působení probiotik může být způsobeno: inhibicí karcinogenů a/nebo prokarcinogenů, inhibicí u růstu mikroorganismů, které konvertují prokarcinogeny na karcinogeny, aktivací hostitelského imunitního systému, redukcí střevního pH a tím regulací aktivity potenciálně patogenních mikroorganismů, změnou motility tlustého střeva a doby průchodu tráveniny (McIntosh, 1996).

Pokusy na zvířatech potvrdily, že jogurt a fermentovaná mléka s probiotickými kulturami inhibují tvorbu a proliferaci nádoru. To může být vysvětleno metabolickým účinkem probiotických bakterií, jež zahrnuje redukcí fekálních enzymů, které

v gastrointestinálním traktu konvertují prokarcinogeny v karcinogeny. U některých kmenů *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium* sp. bylo pozorováno, že redukují hladinu fekálních enzymů jako  $\beta$ -glukuronidázy, azoreduktázy, nitroreduktázy a ureázy, jež katalyzují přeměnu karcinogeních aminů.

Konzumace probiotik při spojení s oligosacharidy může navíc podpořit jejich růst v tlustém střevě a tím i produkci většího množství mastných kyselin s krátkými řetězci jako je kyselina máselná, octová, mléčná a mravenčí, u niž byly potvrzeny protinádorové účinky na buněčné úrovni (Kailasapathy and Chin, 2000).

#### 2.1.3.6 Alergie

Alergie, zejména potravinové, jsou v poslední době často diskutovaným tématem, zvláště díky široké nabídce hypoalergenních preparátů, ale i díky aktivitám předních firem s dětskou výživou. Přes realizaci řady studií, zabývajících se výzkumem pozitivního účinku probiotik v této oblasti je potřeba dalších prací, jež by verifikovaly podmínky podávání (typ, původ, dávka, způsob a frekvenci). Jedna z uskutečněných pilotních studií byla zaměřena na děti s vysokým rizikem alergie. Bylo vybráno celkem 1 223 těhotných žen s alergickou zátěží v 81 %. Alergických otců bylo jen o něco málo méně – 58 %. Jednoduchým přepočtem byli budoucí potomci vybavení alergickou zátěží téměř ve 40 % z obou stran. K prevenci vzniku alergie byly použity 4 kmeny probiotických bakterií (1  $\times$  nejpoužívanější *Lactobacillus* LGG v dávce  $5 \times 10^9$  KTJ/g, 1  $\times$  *Lactobacillus rhamnosus* v dávce  $5 \times 10^9$  KTJ/g, 1  $\times$  *Bifidobacterium breve* v dávce  $2 \times 10^8$  KTJ/g, 1  $\times$  *Propionibacterium* v dávce  $2 \times 10^9$  KTJ/g) a prebiotikum galaktooligosacharidy v dávce 0,8 g/den. Budoucí maminky toto synbiotikum začaly dostávat 1 měsíc před porodem a pak se přešlo beze změny dávky na šestiměsíční podávání samotnému dítěti. Přesně po 5 letech bylo z léčebné skupiny kontrolováno celkem 445 dětí od 610 zúčastněných matek a ze skupiny placebo 446 z 613 původně zařazených. Alergickým onemocněním v 5 letech trpělo 52,6 % dětí ze synbiotické skupiny a 54,9 % z placebo skupiny, nález byl tedy prakticky shodný (Fuchs, 2009).

Je známo, že mléčný protein kasein může spouštět první alergickou reakci u některých kojených miminek. *Lactobacillus* GG a ostatní laktobacily jsou schopny molekulu kaseinu štěpit na menší peptidy a aminokyseliny. Majamaa a Isolauri (1997) studovali účinek suplementace *Lactobacillus* LGG na miminka s atopickým ekzémem. Děti byly rozděleny do placebo a studijní skupiny. Bylo zjištěno, že klinické příznaky se u dětí, kterým bylo podáváno probiotikum znatelně snížily. Tato studijní skupina vykázala snížení jak projevů,

tak intenzity atopické dermatitidy. Výsledky tedy naznačují, že probiotické mikroorganismy mohou potenciálně pomoci zmírnit zánět střev a hypersenzitivní reakci ve spojení s alergií na potraviny (Kailasapathy and Chin, 2000; Majamaa and Isolauri, 1997).

#### 2.1.3.7 Diabetes mellitus

Diabetes 2. typu u osob, které konzumují dlouhodobě stravu s vysokým obsahem tuku, je spojen s proinflamatorním stavem. Složení přirozené mikroflóry střeva často určuje stupeň zánětu, jež přispívá ke vzniku řečeného onemocnění a obezity. Bylo zjištěno, že protizánětlivý faktor nepřímo koreluje s populací bifidobakterií ve střevě. Ukázalo se také, že u diabetu vyvolaného tučnou stravou korelovalo zvyšující se množství bifidobakterií ve střevě se zlepšením glukózové tolerance. Pozitivním působením na chronickou zánětlivou odpověď organismu, snížením množství endotoxinu ve střevě a posílením střevní bariéry by tak mohly bifidobakterie pomoci redukovat výskyt diabetu 2. typu.

U diabetu vyvolaného vysokým příjmem fruktózy, který je spojen s inzulinovou rezistencí a hypertenzí, vedly u zvířecího modelu *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei* a *L. lactis* podávané v kysaném produktu dahi po dobu 8 týdnů k významnému oddálení progresu nemoci nebo zlepšily markery diabetu, například omezily zvýšení hypoglykémie.

Též u diabetu 1. typu by mohla probiotika významně pomoci modulací imunitních reakcí organismu při správném osídlení zažívacího traktu malých dětí, a tím případně i zabránit jeho vzniku (Grofová, 2010).

## 2.2 Využití probiotik v potravinářství

Primární rolí stravy je zajistit dostatečné množství živin odpovídající potřebám daného organismu, zatímco dává strávnickovi pocit uspokojení. V současnosti, zejména v západním světě, se hranice a koncepce ve vědě o výživě posouvají od původního důrazu na přežití, ukojení hladu a prevenci nepříznivých účinků, k využití jídla k podpoře fyzické i psychické pohody, zlepšení zdraví a snížení rizika nemocí (Granato et al., 2010).

Historicky je až na výjimky celosvětový výživový stav populace negativně ovlivněn vysokým příjmem jednoduchých cukrů, solí, nasycených a *trans*-nenasycených mastných kyselin v kombinaci s nízkou konzumací vlákniny, vitamínů, minerálů a dalších esenciálních látek. Výsledky řady studií ukazují, že popsané stravovací návyky jsou hlavní příčinou řady nepřenosných, chronicky degenerativních nemocí, jež jsou označovány souhrnným názvem civilizační choroby, a patří mezi ně například obezita, vysoký krevní tlak či cukrovka II. typu. Z důvodů prevence vzniku a redukce škodlivých dopadů těchto onemocnění a zároveň pokud možno omezení jejich medikamentózní léčby vznikla potřeba výzkumu a vývoje nových typů účinných látek přírodního původu, které by mohly být přirozenou součástí běžně dostupných potravinářských produktů (Roberfroid, 2002).

Termín „funkční potraviny“ byl nejprve definován v Japonsku během 80. let minulého století a to jako potraviny se specifickými zdravotními nebo fyziologickými účinky (foods for specified health use, FOSHU). Později byla celosvětově přijata definice, podle níž jsou funkční potraviny vnímány jako potravinářské produkty nebo živiny, které po požití vedou ke zlepšení fyziologického stavu lidského organismu. Vyvolané pozitivní změny jsou ale oddělené a odlišné od role těchto substrátů jako nutrientů. Jinak by šlo říci, že všechny potraviny jsou v určité fyziologické hladině funkční, protože díky obsahu živin a dalších látek poskytují tělu energii, udržují jeho růst nebo obnovují životní procesy. Avšak pouze funkční potravinářské produkty kromě těchto nezbytností přinášejí také zdravotní výhody a mohou snížit riziko nemocí a/nebo podpořit optimální zdraví. Kategorie funkčních poživatin zahrnuje potraviny konvenční, modifikované (obohacené nebo vylepšené), pro lékařské účely a pro speciální dietetické využití (ADA, 2009; Granato et al., 2010).

Mezi funkční potravinářské produkty s příznivým účinkem na lidské zdraví, jež jsou dlouhodobě široce podporovány médií, patří potraviny s obsahem probiotických mikroorganismů. Největším producentem těchto výrobků je pravděpodobně mlékárenský průmysl, neboť mléko je pro řadu probiotik přirozeným a vhodným růstovým médiem. Většina mléčných probiotických produktů dostupných na trhu obsahuje zástupce rodů

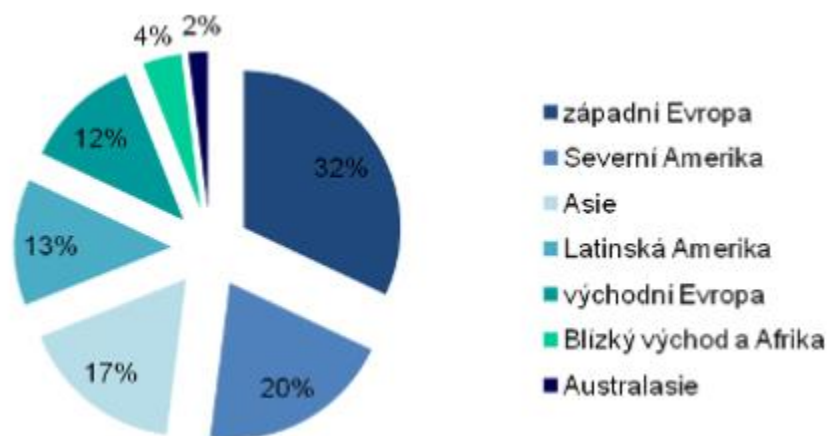
*Lactobacillus* a *Bifidobacterium*, které jsou řazeny mezi Gram-pozitivní bakterie. Mezi nejčastěji používané patří kmeny *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *L. johnsonii*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *Bifidobacterium animalis*, *B. bifidum*, *B. brevis*, *B. infantis* a *B. longum*, (Knorr, 1998).

Mléčné probiotické výrobky musí být nejenom bezpečné, obsahovat legislativně daný minimální počet živých buněk (dle platné České i Evropské legislativy  $\geq 10^6$  KTJ/g na konci skladovatelnosti), aby byly zajištěny jejich proklamované zdravotní výhody, ale také musí být sensoricky přijatelné pro konzumenty (Vyhláška č. 77/2003 Sb., 2003). Sensorická kvalita produktů je vždy sledována po celou dobu procesu výroby, díky čemu je možno předejít případným problémům a zajistit standardní organoleptický profil výrobků. Bifidobakterie jsou například heterofermentativní mikroorganismy, které produkují při zpracování cukrů (laktózy) kyselinu octovou a mléčnou v poměru 3:2. Chuť a vůně kyseliny octové je však u mléčných produktů považována, zejména neochucených, za defekt nazývaný „probiotická příchut“.<sup>4</sup> Řešením je výběr specifických probiotických kmenů schopných včlenit se do matrice potraviny bez produkce příchuti, nebo použít přídatná maskovací činidla (Granato et al., 2010).

## **2.2.1 Vysokotučné nemléčné potraviny vhodné jako nosiče pro probiotika**

### **2.2.1.1 Čokoláda**

Čokoláda je získávána smícháním kakaové hmoty a kakaového másla s cukrem. Dle druhu produktu jsou dále přidávány další přísady jako například mléko, vanilin či káva. Čokoláda a čokoládové cukrovinky jsou sytící potraviny, které se vyznačují vysokou energetickou hodnotou. Biologická hodnota pak spočívá především v obsahu minerálních látek (fosfor, draslík, vápník, mangan, železo) a vitamínů (A a B). Dále čokoláda a výrobky z ní obsahují teobromin, který organismus povzbuzuje, a serotonin a methylamin, u nichž jsou předpokládány uklidňující a protinádorové účinky (Hrabě et al., 2005). V České Republice se ročně zkonsumuje zhruba 6 kg čokolády na osobu, což je srovnatelné s Evropským průměrem. Čokoládovému průmyslu je předpovídán v následujících letech vzestupný trend. Současný podíl jednotlivých částí světa na trhu s čokoládou je uveden na obr. 5 (KMPG, 2012).



Obrázek 5: Podíl jednotlivých částí světa na trhu s čokoládou (KMPG, 2012).

V posledních letech byla provedena řada studií, které se zaměřily na charakterizaci pozitivních účinků konzumace čokolády na lidský organismus. Jejich výsledky poukazují mimo jiné na to, že konzumace hořké čokolády může vést ke zlepšení endotelní funkce a funkce krevních destiček. U produktů obohacených prebiotiky (frukto- a galaktooligosacharidy) a vlákninou (polydextrózou) byly navíc prokázány příznivé účinky na mikrobiom tlustého střeva, z čehož lze usuzovat, že tento typ vysokotučné potravinářské matrice by mohl být i dobrým nosičem probiotických bakterií (Herman et al., 2006, Vlachopoulos et al., 2005; Pedrosa et al., 2012).

Vlivem čokolády fortifikované vlákninou (polydextrózou) na mikroflóru tlustého střeva se zabývali také Maekivuokko a kol. (2007). Pozorovaný pozitivní účinek této potraviny (snížení koncentrace biogenních aminů) vysvětlili preventivní funkcí sacharolytické fermentace polydextrózy proti škodlivému procesu hnití v tlustém střevu. Polysacharidy vlákniny jsou totiž preferovaným zdrojem energie pro střevní mikroorganismy. Když nejsou dosažitelné, mikroby tlustého střeva začnou přeměňovat proteiny a aminokyseliny na biogenní aminy a větvené mastné kyseliny. Tyto komponenty hnití pak negativně působí na epitel tlustého střeva (Maekivuokko et al., 2007).

#### 2.2.1.2 Dresink

Jako dresink je nejčastěji nazývána omáčka k ochucení salátů. Západní kultura rozlišuje dva typy těchto produktů – kyselý a krémový. Kyselý je směs oleje, octa, bylinek, koření a cukru, popř. dalších ingrediencí. Naopak krémový dresink je založený na majonéze nebo fermentovaných mléčných výrobcích.

Autoři zaznamenali, že matrice dresinku je obecně dobrým nosičem probiotik, neboť buňky přežívaly ve výrobku po dlouhou dobu (5 týdnů) ve vysokém počtu, pokud byly při jeho přípravě dispergovány ve vodné fázi. Jejich životaschopnost a rezistence vůči nepříznivým podmínkám (působení trávicích enzymů) byla navíc významně pozitivně ovlivněna přidavkem prebiotika. Přítomnost inulinu zároveň zlepšila disperzní stabilitu a zvýšila viskozitu dresinku (Mantzouridou et al., 2012).

## **2.2.2 Mléčné vysokotučné produkty vhodné jako nosiče pro probiotika**

### **2.2.2.1 Dělení mléčných produktů**

Mléčné výrobky jsou Vyhláškou č. 77/2003 Sb. v platném znění (Vyhláška č. 336/2013 Sb.) děleny na 10 druhů, které jsou dále členěny na skupiny a podskupiny. Mražené krémy pak tvoří samostatnou kategorii. Vyhláškou č. 77/2003 Sb. jsou také definovány základní charakteristiky jednotlivých produktů, například minimální obsah tuku. Druhy, skupiny a podskupiny mléčných výrobků jsou následující:

- 1) Mléko, které je děleno na skupiny tekuté, zahuštěné a sušené. Tekuté mléko je členěno na odtučněné nebo odstředěné, částečně odtučněné nebo polotučné, plnotučné, plnotučné selské nestandardizované a s x % tuku. Zahuštěné mléko je rozděleno na odtučněné, slazené nebo neslazené, částečně odtučněné nebo polotučné, slazené nebo neslazené, plnotučné, slazené nebo neslazené. Sušené mléko je rozřazeno do podskupin odtučněné, částečně odtučněné nebo polotučné a plnotučné.
- 2) Smetana, jež je dělena na stejné skupiny jako mléko, tedy na tekutou, zahuštěnou a sušenou. Tekutá smetana je dále členěna na smetanu ke šlehání a vysokotučnou.
- 3) Kysané nebo zakysané mléčné výrobky jsou řazeny do skupin jogurt, jogurtové mléko, acidofilní mléko, kefír, kefirové mléko, kysané mléko nebo smetanový zákys, kysaná nebo zakysaná smetana, kysané podmásli a kysaný mléčný výrobek s bifido kulturou. Jogurt je navíc rozřazen do podskupin bílý, smetanový, řecký a řeckého typu či stylu.
- 4) Mléčné výrobky tepelně ošetřené po kysacím procesu.
- 5) Mléčné výrobky obohacené přidavkem mléčné kultury.
- 6) Máslo mlékárenské a koncentráty mléčného tuku jsou rozděleny na skupiny máselný tuk nebo mléčný tuk bezvodý, máselný koncentrát, čerstvé máslo, máslo, máslo stolní.

- 7) Složené mléčné výrobky, které jsou děleny na mléčný roztíratelný tuk (máselný přípravek) a máslo s přísadkou alkoholu.
- 8) Tvarohy, jež jsou členěny na skupiny měkký nebo odtučněný, nízkotučný nebo jemný (zde je ještě klasifikována podskupina tvaroh termizovaný), polotučný a tučný, a tvrdý nebo na strouhání nebo ke strouhání.
- 9) Sýry jsou řazeny do skupin přírodní, tavený, tavený sýrový výrobek a syrovátkový. Přírodní sýry jsou dále rozlišovány na podskupiny čerstvý, zrající, zrající pod mazem, zrající v celé hmotě, s plísní na povrchu, s plísní uvnitř hmoty, dvouplísňový, v solném nálevu a bílý, pařený, extra tvrdý (ke strouhání), tvrdý, polotvrdý, poloměkký, měkký. Podskupiny tavených sýrů jsou 2, tavený sýr roztíratelný a s lomem.
- 10) Bílkovinné mléčné výrobky, kam patří skupiny potravinářský kasein (s podskupinami kyselý a sladký), potravinářský kaseinát a mléčná bílkovina (Vyhláška č. 77/2003 Sb., 2003; Vyhláška č. 336/2013 Sb., 2013).

Z vyjmenovaných mléčných produktů by tedy do kategorie vysokotučných spadaly smetana, jogurt smetanový, případně i řecký a řeckého typu/stylu, smetanový zákys, zakysaná smetana a tučností odpovídající výrobky tepelně ošetřené po kysacím procesu či obohacené přísadkou mléčné kultury, máslo mlékárenské a koncentráty mléčného tuku, složené mléčné výrobky, tučný tvaroh a tučné sýry. Samozřejmě sem lze zařadit také mražené krémy s výjimkou zmrzlin vodových, ovocných a se sníženým obsahem tuku (Vyhláška č. 77/2003 Sb., 2003; Vyhláška č. 336/2013 Sb., 2013).

#### 2.2.2.2 Jogurt

Jogurt patří mezi tradiční a jedny z nejběžnějších mléčných produktů, které jsou s oblibou konzumovány po celém světě pro své příjemné organoleptické vlastnosti (Allgeyer et al., 2009). Dle platné evropské a české legislativy je tento výrobek definován jako kysaný mléčný produkt získaný fermentací mléka, smetany, podmáslí nebo jejich směsi pomocí jogurtové kultury. Jako jogurt může být tedy označen pouze výrobek vzniklý činností protosymbiotické směsi bakterií mléčného kvašení *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, jejichž celkový počet na konci trvanlivosti produktu je minimálně  $10^7$  KTJ/g. Platná legislativa také povoluje přísadku dalších typů bakterií mléčného kvašení, které jsou schopny produkovat kyselinu mléčnou a další senzorycky aktivní látky, čímž pomáhají dotvářet specifické aromatické, chuťové a texturní



charakteristiky jogurtu. Musí však být vždy zachován optimální poměr a celkový počet základních 2 členů jogurtové kultury (Vyhláška č. 77/2003 Sb., 2003; Vyhláška č. 336/2013 Sb., 2013).

Matrice tohoto výrobku je také jedním z nejvíce využívaných médií, do nichž se dají s výhodou inkorporovat probiotika. Mnoho studií zaměřených na tuto problematiku dokázalo, že jogurt je vhodným nosičem probiotických mikroorganismů a jeho organoleptické vlastnosti lze po jejich přidavku velmi snadno optimalizovat (Hekmat and Reid, 2006; Maragkoudakisa et al., 2006).

Hekmat a Reid (2006) provedli například panelový pokus na porovnání smyslových vlastností probiotického (*Lactobacillus rhamnosus* GR-1 podpořený *L. reuteri* RC-14) a standartního produktu (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*). Výsledky ukázaly, že vzhled, chuť, textura a celková kvalita probiotických vzorků byly srovnatelné až shodné s parametry standartního jogurtu (Hekmat and Reid, 2006). Maragkoudakisa a kol. (2006) hodnotili sensorické vlastnosti probiotického jogurtu řeckého typu s přidavkem různých kmenů lactobacilů (*Lactobacillus plantarum* ACA-DC 146 a *L. paracasei* subsp. *tolerans* ACA-DC 4037). Výrobek, který obsahoval *L. paracasei*, vykazoval bohatou, jemnou a tradiční chuť, která byla navíc díky nižší kyselosti jemnější (Maragkoudakisa et al., 2006).

Řada prací se také zabývá vlivem přidavku vlákniny a probiotik na životaschopnost mikroorganismů a organoleptické vlastnosti probiotických jogurtů. Almeida a kol. (2009) zkoumali účinek fortifikace vlákninou z palmy Acai na sensorickou kvalitu produktu obsahujícího probiotické bakterie *Bifidobacterium bifidum* a *Lactobacillus acidophilus*. Zjistili pozitivní korelaci mezi rostoucím množstvím přidané vlákniny a mírou přijetí výrobku konzumenty. Nejlépe hodnocenými parametry byly barva a chuť (Almeida et al., 2009). Allgeyer a kol. (2009) ve své studii demonstrovali vliv obohacení probiotického (*Bifidobacterium lactis* Bb-12 a *Lactobacillus acidophilus* LA-5) jogurtového nápoje různými typy vlákniny a prebiotik (inulin, rozpustná kukuřičná vláknina, polydextróza) na jeho sensorický profil. Zaznamenali, že smyslové vlastnosti produktů se liší nejen v závislosti na typu přidané funkční složky, ale i na její koncentraci. Zároveň pozorovali pozitivní účinek fortifikace na životaschopnost probiotické kultury. Počet životaschopných *B. lactis* po skončení doby skladování (30 dní) byl  $1,10 \times 10^6$  KTJ/ml pro polydextrózu,  $4,40 \times 10^5$  KTJ/ml pro rozpustnou kukuřičnou vlákninu,  $1,87 \times 10^5$  KTJ/ml pro inulin a  $6,0 \times 10^5$  KTJ/ml bez přidání prebiotika. Pro *L. acidophilus* byl počet následující:  $1,0 \times 10^6$  KTJ/ml pro polydextrózu,  $6,30 \times 10^5$  KTJ/ml pro rozpustnou kukuřičnou vlákninu,

$2,87 \times 10^5$  KTJ/ml pro inulin a  $4,8 \times 10^5$  KTJ/ml pro kontrolní výrobek bez přidaných prebiotik. Všech vyjmenovaných prebiotik bylo v jogurtu obsaženo 5 gramů (Allgeyer et al., 2009).

### 2.2.2.3 Tvaroh a sýr

Sýrem může být dle platné evropské a české legislativy označen pouze mléčný výrobek, který byl vyprodukován vysrážením mléčné bílkoviny z mléka buď působením syřidla nebo jiných vhodných koagulačních činidel, prokysáním a oddělením podílu syrovátky. Čerstvý sýr je produkt po prokysání tepelně neošetřený, u nějž nedochází ke zrání. Tvaroh je nezrající sýr získávaný postupem s převahou kyselého srážení. U zrajícího sýru dochází po vysrážení proteinů, prokysání a oddělení podílu syrovátky k dalším biochemickým a fyzikálním procesům nazývaným souhrnně zrání. Nakonec, tavený sýr je výrobek, který vzniká tepelnou úpravou směsi přírodních sýrů, tvarohů a dalších mléčných produktů (másla, syrovátky, mléka, podmáslí) za přídavku tavicích solí. Tvarohy a sýry můžeme také dělit podle tučnosti. Vysokotučný sýr musí obsahovat více než 60 % hm., plnotučný více než 45 % hm. a plnotučný tvaroh minimálně 38 % hm. tuku v sušině (Vyhláška č. 77/2003 Sb., 2003; Vyhláška č. 336/2013 Sb., 2013). Univerzálnost použití a celosvětová obliba těchto výrobků skýtá výhody jejich potenciálního využití jako nosiče probiotik. Produkce probiotických tvarohů a sýrů je však dosud omezena nutností znát všechny faktory, jež ovlivňují jednotlivé kroky procesu, mírou přežití probiotických mikroorganismů v průběhu výroby, zrání a skladování, chemickou stabilitou a smyslovým přijetím (Granato et al., 2010).

Kapacitu růstu probiotických bakterií *Lactobacillus acidophilus* A3, *L. paracasei* A13 a *Bifidobacterium bifidum* A1 ve výrobním procesu probiotického sýru Fresco a během jeho uskladnění v chladničce při teplotě 5 °C a 12 °C studovali Vinderola a kol. (2009) po dobu 60 d. Autoři zjistili, že nejlépe se za daných podmínek dařilo kultuře *L. paracasei* A13, která navýšila celkový počet svých buněk o půl log řádu během výroby a o druhou polovinu během prvních patnácti dní skladování při teplotě 5 °C, a to bez negativního ovlivnění sensorické přijatelnosti produktu. Negativní dopad však mělo skladování sýru při teplotě 12 °C po dobu 60 d (Vinderola et al., 2009).

Stanton a kol. (1998) ve své práci shrnuli výhody a nevýhody vývoje probiotického Čedaru. Zkoumali aplikační možnosti kmenů *Lactobacillus salivarius* a *L. paracasei* ssp. *paracasei* NFBC 338 izolovaných z lidského gastrointestinálního traktu. Uplatnění těchto zdravích prospěšných kultur by mělo za následek vznik funkční potraviny, ale pouze pokud by

buňky byly dostatečně životaschopné během zrání a svým růstem by nezpůsobily negativní změny textury a senzoryckého profilu daného výrobku. Dle jejich výsledků, kdy zjistili, že včleněné kmeny nemají negativní vliv na kvalitu sýru (aroma, chuť a strukturu), by sýr mohl být vhodným nosičem probiotik. Zároveň zjistili, že *L. paracasei* během zrání sýru roste, ale *L. salivarius* dobu zrání nepřezije (Stanton et al., 1998).

Cardarelli a kol. (2008) zkoumali vliv inulinu, oligofruktózy, oligosacharidů medu a jejich vzájemných kombinací na počet živých probiotických mikroorganismů (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* a *Lactobacillus acidophilus*) a senzoryckou přijatelnost sýru Petit-Suisse. Poměr jednotlivých prebiotik je vyznačen v tab. 1. Výsledky jsou pak uvedeny v tab. 2. Nejnižší celkový počet životaschopných buněk byl zaznamenán po skladování o délce 28 d v chladu 6,63 log KTJ/g pro kontrolní vzorek, zatímco nejvyšší, 7,43 log KTJ/g, pro sýr, který obsahoval 10 g oligofruktózy. Smyslová přijatelnost produktu znatelně vzrostla během skladování pouze u sýra, který obsahoval oligofruktózou nebo inulin. Vzorek obohacený oligosacharidy medu byl hodnocen nejhůře. Nejlepších senzoryckých a technologických parametrů bylo naopak dosaženo při přidavku směsi oligofruktózy s inulinem v poměru 1:1 (tj. 5 g oligofruktózy a 5 g inulinu na 100 g) (Cardarelli et al., 2008b).

Tabulka 1: **Receptura synbiotického sýru Petit-Suisse** (Cardarelli et al., 2008b).

Pokus	Proporce dané ingredience ve směsi ( $x_1, x_2, x_3$ )	Množství dané ingredience (g) ve 100 g sýru <i>petit-suisse</i> <sup>a</sup>		
		Oligofruktóza ( $x_1$ )	Inulin ( $x_2$ )	Med ( $x_3$ )
T1	(1,0,0)	10	0	0
T2	(0,1,0)	0	10	0
T3	(0,0,1)	0	0	10
T4	(1/2,1/2,0)	5	5	0
T5	(1/2,0,1/2)	5	0	5
T6	(0,1/2,1/2)	0	5	5
T7	(1/3,1/3,1/3)	3,33	3,33	3,33
T8	(0,0,0)	-	-	-

- = bezpřidání ingrediencí (T8 – kontrolní pokus)

<sup>a</sup> 10 g z celkové probiotické směsi bylo přidáno k ostatním ingrediencím

Tabulka 2: Vliv přídavku prebiotik na životaschopnost probiotických mikroorganismů v synbiotickém sýru Petit-Suisse (Cardarelli et al., 2008b).

Vzorek	Celkový průměr pro každý vzorek (KTJ/g)	Doba skladování (dny)			
		7	14	21	28
T1	6,97	6,66	6,83	6,97	7,43
T2	6,53	6,20	6,37	6,54	7,00
T3	6,42	6,29	6,14	6,49	6,77
T4	6,99	6,54	6,74	7,36	7,34
T5	6,79	6,49	6,76	6,97	7,00
T6	6,71	6,26	6,60	6,83	7,14
T7	6,66	6,23	6,66	6,74	7,03
T8	6,39	6,17	6,23	6,54	6,63
Celkový průměr v čase		6,35	6,54	6,80	7,04

Blanchette a kol. (1996) připravili probiotický sýr Cottage pomocí zakysání smetanového dresinku kmenem *Bifidobacterium infantis* ATCC 27920G. Životaschopnost mikroorganismů v závislosti na pH dresinku během skladování vzorků při teplotě 4 °C po 28 d je uvedena v tab. 3. Při sensorické analýze byly porovnávány kontrolní a experimentální výroba o 2 různých kyselostech dresinku, pH 4,5 a pH 5,5. Výsledky ukázaly, že hodnotitelé preferovali kontrolní sýr a probiotický výrobek o pH 5,5., jak je patrné z obr. 6. Studie také ukázala, že navzdory slabé životaschopnosti *B. infantis* v tomto druhu potravinářského nosiče (buňky nepřežily déle než 10 d), kultura účinně produkovala  $\beta$ -D-galaktosidázu a inhibovala růst Gram-negativních bakterií (Blanchette et al., 1996).

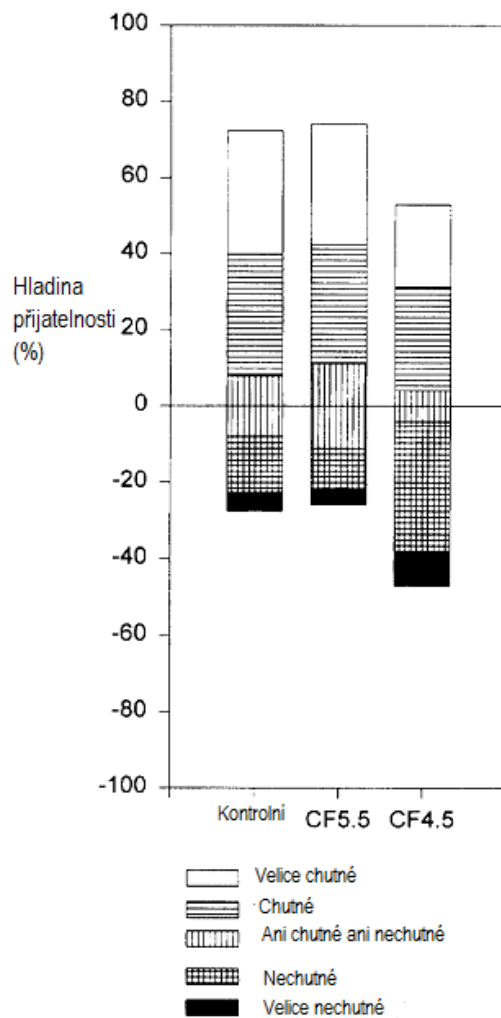
Tabulka 3: **Vliv pH smetanového dresinku na životaschopnost probiotických mikroorganismů v sýru Cottage** (Blanchette et al., 1996).

Ošetření					
Doba skladování (d)	NF	CF 6,0	CF 5,5	CF 5,0	CF 4,5
Log KTJ/g					
1	6,97	6,92	7,07	7,48	7,75
5	5,30	5,20	5,67	6,41	7,06
8	4,47	4,11	4,20	4,68	6,05
15	3,04	2,48	0,63	2,56	2,85
22	0,72	0,68	0,60	0,48	0,60
28	ND	ND	ND	ND	ND

NF = Sýr Cottage s nezakysáním smetany CF 6,0; CF 5,5; CF 5,0; CF 5,0; CF 4,5 = Sýr Cottage zakysený na pH 6,0; 5,5; 5,0; 4,5 ND = nelze detekovat

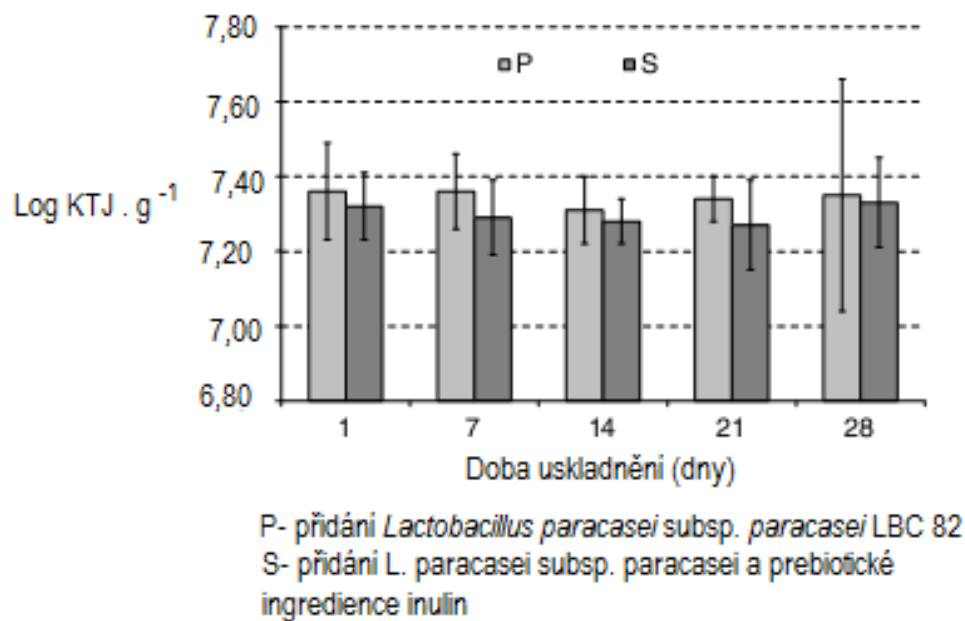
#### 2.2.2.4 Smetanový dezert

Široká nabídka mléčných dezertů, které jsou dobře přijatelné pro konzumenty, nabízí velké množství textur, chutí a vzhledu. Výživové a senzorické charakteristiky podporují jejich spotřebu mnoha skupinami konzumentů, včetně dětí a starých lidí. Mléčné dezerty, především ty založené na bázi škrobu, jsou široce konzumovány v Evropě („Natilas“ ve Španělsku, „Vanilla vla“ v Holandsku, „Crème dessert“ ve Francii). Zjednodušeně jsou vyrobené z mléka, škrobu, sacharózy, aroma a barviv (Cardarelli et al., 2008a; Tárrega and Costell, 2006).



Obrázek 6: **Senzorická analýza chutnosti probiotického sýru Cottage.** Kontrolní = výrobek bez probiotické kultury; CF 5,5 = probiotický výrobek s dresinkem zakysaným na pH 5,5; CF 4,5 = probiotický výrobek s dresinkem zakysaným na pH 4,5 (Blanchette et al., 1996).

Cardarelli a kol. (2008) se ve své studii zaměřili na produkci probiotické smetanové čokoládové pěny obohacené o prebiotikum (inulin). Zkoušeným probiotickým mikroorganismem byl *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LBC 82. Autoři zjistili, že kombinace potenciálně probiotických kmenů *L. paracasei* subsp. *paracasei* a inulinu je vzájemně prospěšná. Toto spojení nejen vytváří synbiotický potenciál smetanového dezertu, ale také příjemnou texturu a senzorické vlastnosti produktu. Z hlediska životaschopnosti probiotických kultur bylo pozorováno, že počet bakterií po skladování o délce 28 d za chladu (4 °C) byl stále vyšší (7,27 a 7,35 log KTJ/g), jak je patrné z obr. 7, než je doporučené minimum ( $10^6$  KTJ/ml), takže Cardarelli a kol. (2008) označili výrobek za vhodný nosič probiotik (Cardarelli et al., 2008a).



Obrázek 7: Vliv délky skladování na životaschopnost *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LBC 82 v probiotické a synbiotické smetanové čokoládové pěně (Cardarelli et al., 2008a).

#### 2.2.2.5 Mražený krém

Mražený krém je potravina, která má velký potenciál k tomu, aby se stala nosičem probiotických mikroorganismů, neboť je konzumována všemi věkovými kategoriemi. Dle platné evropské a české legislativy je zmrzlina definována jako produkt získaný současným našleháním a zmrazením homogenizované a pasterované směsi, jejíž hlavní složky jsou voda, mléko, smetana, tuk a cukr, pevné nebo pastovité konzistence, jež je uváděn do oběhu a určen ke konečné spotřebě ve zmrazeném stavu (Vyhláška č. 77/2003 Sb., 2003; Vyhláška č. 336/2013 Sb., 2013).

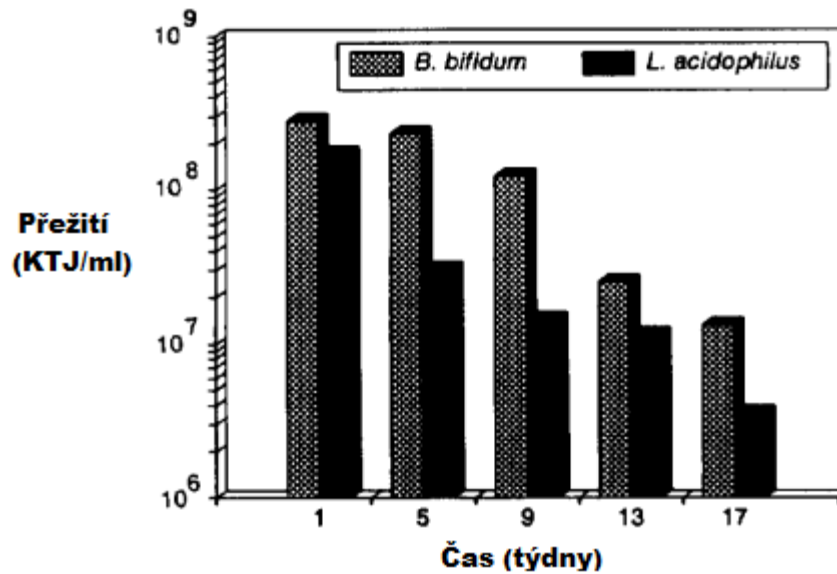
Pokud je snahou připravit probiotický mražený krém, je nutno optimalizovat proces výroby takovým způsobem, aby byly zajištěny dostatečný počet a životaschopnost použité kultury, které budou mít dostatečnou terapeutickou aktivitu. Studie vedené v různých částech světa ukázaly, že probiotické bakterie jsou většinou v této potravinářské matici dostatečně stabilní. Navíc bylo zaznamenáno, že probiotické bakterie obvykle znatelně nezmění sensorické parametry mražených desertů (Cruz et al., 2009; Granato et al., 2010).

Vývojem probiotických zmrzlin se zabývali mezi jinými i Davidson a kol. (2000), Granato a kol. (2010) a Hekmat a McMahon (1992). Davidson a kol. (2000) popsal,

že mražené krémy obohacené probiotiky se obecně vyznačují slabším aroma a jogurtovou chutí než jejich tradiční alternativy. Produkce těchto výrobků s vysokou senzoricou kvalitou je tedy poměrně náročná a vyžaduje dobrou znalost jednotlivých technologických postupů, není však nemožná. Probiotické mikroorganismy sice obvykle nemění organoleptické vlastnosti zmrzliny intenzivně, avšak exkretují kyselinu octovou, jejíž senzoricou stopu je třeba odstranit nebo zamaskovat. Inovativní a efektivní alternativou k běžně používaným maskovacím činidlům je mikroenkapsulace probiotických buněk. Důležité je také zmínit, že nefermentované probiotické mražené krémy tyto problémy spojené s mikrobiálním metabolismem normálně nevykazují, pouze pokud jsou skladovány při teplotách nižších než -18 °C (Davidson et al., 2000).

Favaro-Trindade a kol. (2006) zkoumali vlastnosti probiotických zmrzlin obsahujících dužninu Aceroly. Výrobky byly připraveny pomocí různých startovacích kultur (*Bifidobacterium lactis* BL-01, *B. longum* BL-04, *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*). Autoři vytvořili šest různých vzorků o jiném pH a kombinace těchto kmenů (*S. thermophilus* a *L. delbrueckii* spp. *bulgaricus* při pH 5/4,5; *B. longum* při pH 5/4,5 a *B. lactis* při pH 5/4,5). Autoři se zaměřili především na charakterizaci životaschopnosti mikroorganismů, stabilitu askorbové kyseliny a senzoricou přijatelnost vzorků. Bylo prokázáno, že použité kultury jsou životaschopné v doporučeném minimálním limitu  $10^6$  KTJ/g po dobu 15 týdnů při hodnotě pH mraženého krému 4,5. Koncentrace vitamínu C se ve všech vzorcích pohybovala v průměru 141,7 mg/100g. Koncentrace vitamínu nebyla ovlivněna procesem výroby, pH, zmrazením ani použitými mikroorganismy. Ačkoli smyslová přijatelnost produktů byla celkově velmi nízká, přidávkem kyselejšího ovoce jakým je Acerola se podařilo zamaskovat octově kyselou chuť způsobenou metabolismem probiotických bakterií (Favaro-Trindade et al., 2006, Granato et al., 2010). Hekmat a McMahon (1992) se také věnovali problematice přežití probiotických kmenů *Bifidobacterium bifidum* 946745101 a *Lactobacillus acidophilus* 946744A v matrici zmrzliny a jeho výsledných senzoricou vlastností. Závislost vitality daných mikroorganismů na délce skladování v mrazu (-5 °C) je uvedena na obr. 8. Jejich výsledky potvrdily, že výrobek je dobrým nosičem probiotik, a naznačily, že všeobecná přijatelnost výrobků se mění podle pH daného výrobku. Nejlépe přijaté byly zmrzliny o pH 5,5 a 6,0 (Hekmat and McMahon, 1992).





Obrázek 8: Vliv délky skladování při – 5 °C na životaschopnost probiotických kultur v mraženém krému (Hekmat and McMahon, 1992).

Řada dalších autorů se zaměřuje na výzkum v oblasti synbiotických mražených krémů. Možnosti uplatnění různých druhů prebiotik je však třeba zhodnotit z hlediska jejich možného smyslového příspěvku. Výsledky předchozích studií se zatím shodují, že vybraná probiotika nemohou změnit organoleptický profil produktů, které obsahují prebiotika (Allgeyer et al., 2009). Akin a kol. (2007) zkoumali vliv inulinu a množství cukru na senzorní parametry probiotické zmrzliny obohacené probiotickými kmeny *Lactobacillus acidophilus* LA-14 a *Bifidobacterium lactis* BL-01. Autoři pozorovali, že vyšší koncentrace cukru zlepšila přijetí výrobků hodnotiteli, zatímco obohacení inulinem nemělo vůbec žádný efekt. Připravené vzorky navíc nebyly nechutné a ani po 90-ti denní době skladování v nich konzumenti nezaznamenali jogurtovou či probiotickou chuť. Žádný z těchto mražených krémů také nebyl hodnocen jako nevýrazný, drobivý, pěnový nebo písčité (Akin et al., 2007). Cruz a kol. (2009) zase zjistili, že přidáním prebiotik (ovocná vláknina a šťáva) se zmrzlina stala během skladování při -20 °C pevnější. Autoři také v jednoměsíčních intervalech posuzovali životaschopnost použitých probiotických bakterií (*Bifidobacterium bifidum* Bb-12 a *Lactobacillus acidophilus* La-5). Kultury byly vystaveny působení žlučových solí, antibiotik a HCl a ukázalo se, že jsou díky přidávku prebiotik vysoce rezistentní proti všem těmto podmínkám (Cruz et al., 2009).

## 2.3 Sušenky jako potenciální nosič probiotik

Rostoucí poptávka spotřebitelů po nutričně hodnotných, vyvážených a ihned konzumovatelných potravinách s dlouhou dobou trvanlivosti iniciovalo vývoj velkého množství produktů kombinujících suché a křupavé části s jemnou náplní, například různé typy plněných sušenek (Battaiotto et al., 2013).

Evropská a česká legislativa zahrnuje sušenky a oplatky mezi pekařské výrobky. Tyto rozděluje příslušná vyhláška (Vyhláška č. 333/1997 Sb., 1997) na několik druhů a skupin. Druhy pekařských produktů jsou následující: chléb, běžné pečivo, jemné pečivo a trvanlivé pečivo, přičemž sušenky a oplatky spadají do poslední kategorie. Trvanlivé pečivo je definováno jako „výrobky vyrobené zejména z mouky, popřípadě dalších surovin, přídatných látek a látek určených k aromatizaci, s obsahem vody nejvýše 10 %, s výjimkou perníků, preclíků a trvanlivých tyčinek s obsahem vody nejvýše 16 %, popřípadě plněné různými náplněmi, máčené, potahované nebo povrchově upravené“ .

Dle Vyhlášky č. 333/1997 Sb. je trvanlivé pečivo dále členěno do 12 skupin, na sušenky ze šlehaných hmot, oplatky, perníky, suchary, preclíky, trvanlivé tyčinky, knäckebrot, crackerové pečivo, extrudované výrobky, pufované výrobky, macesy a piškoty. Sušenkami se obecně rozumí produkty získané upečením těsta, které je chemicky kypřené. Pokud jsou označeny přízviskem „ze šlehaných hmot“, kypření probíhá především mechanicky a jako základní suroviny jsou používány vaječný obsah a cukr. Oplatky legislativa definuje jako výrobky, které jsou získávány upečením tenké vrstvy těsta nebo výrobní hmoty kontaktním způsobem ve formách.

Vyhláška také ukládá požadavky na správné označování těchto pekařských produktů. Na výrobku musí být uveden druh i příslušná skupina. V případě plněných nebo potahovaných produktů musí být doplněna informace o druhu náplně či polevy. Výrobky lze také označit dalšími názvy, například „máslové“, pokud je k jejich přípravě použitý tuk výhradně máslo, „vaječné“, obsahují-li nejméně 180 g celých vajec na 1 kg mlýnských surovin, „kakaové“, pokud je přidáno minimálně 2,5 % hm. kakaa nebo název použité skupiny suchých skořápkových plodů, obsahují-li nejméně 25 g příslušných jader na 1 kg hmoty (Vyhláška č. 333/1997 Sb., 1997).

Legislativně jsou také limitovány vybrané obsahy základních živin, fyzikálně-chemické a organoleptické parametry, jež zásadním způsobem ovlivňují celkovou kvalitu trvanlivého pečiva či přímo jeho jednotlivých skupin. Vlhkost sušenek a oplatků by neměla

přesáhnout 11 % (dle vyhlášky 10 %), neboť poté dochází k nevratným organoleptickým změnám a ke snížení mikrobiologické kvality a doby trvanlivosti výrobku. Tyto produkty navíc patří mezi hygroskopické potraviny, které s nasátím vlhkosti nabobtnají, a může dojít k oddělení krémové fáze, pokud jsou plněné. Difúze vlhkosti hmotou výrobku je umožněna jeho tukovou složkou (Battaiotto et al., 2013; Vyhláška č. 333/1997 Sb., 1997). Receptura sušenek a oplatek závisí na technologii výrobce, obsah popelu by však měl být nejvýše 2,5 % hm. Obsah tuku produktů se může pohybovat od 0 do 35 % hm. Dle tučnosti můžeme tedy rozlišovat měkké, tučné výrobky (s obsahem tuku 15 až 30 % hm.) a tvrdé, méně tučné produkty (tučnost 0 až 15 % hm.). Obsah cukru by se měl pohybovat v rozmezí 10 až 20 % hm. Z hlediska organoleptické jakosti by sušenky měly mít pravidelný tvar dle pečicí formy, světle hnědý povrch, křehkou střídku a jemnou chuť a vůni. Oplatky by se pak měly vyznačovat taktéž pravidelným tvarem dle pečicí formy, jejíž reliéf je lehce otisknut do povrchu výrobku, křehkou střídkou a příjemnou barvou závislou na typu použitých přísad (Hrabě et al., 2005; Vyhláška č. 333/1997 Sb., 1997).

### **2.3.1 Technologie výroby sušenek**

Základními pekárenskými surovinami jsou mouka, voda, cukr, tuk, mléčné výrobky, vejce, sůl, droždí, enzymové přípravky a emulgátory. Mouka je nejdůležitější surovinou, protože může tvořit až 70 % receptury. Mezi důležitými jakostními parametry této složky lze jmenovat obsah a kvalitu lepku, které mají primární vliv na objem produktu, obsah a aktivitu amylolytických enzymů a vaznost mouky, tj. množství vody vázané při hnětení těsta. Při výrobě trvanlivého pečiva (sušenek a oplatek) je upřednostňována surovina se slabým lepkem a nižším obsahem amylolytických enzymů. Uplatňována je především pšeničná mouka, která obsahuje méně zkvasitelných cukrů a enzymů než žitná (používající se k výrobě chleba). Většinou se jedná o mouku hladkou speciál, zrající zhruba 14 až 21 dnů s obsahem lepku 22 až 28 % v sušině. Obecné schéma technologie výroby trvanlivého pečiva je znázorněno na obr. 9 (Hrabě et al., 2005).



Obrázek 9: Schematické znázornění technologie výroby trvanlivého pečiva (Hrabě et al., 2005).

Dle způsobu tvarování jsou rozlišovány sušenky a oplatky vypichované, lisované, řezané a stříkané. Druh procesu je volen na základě obsahu tuku a bílkovin v receptuře, jež jsou uvedeny v tab. 4 (Hrabě et al., 2005).

Tabulka 4: Rozdělení sušenek a oplatků dle způsobu tvarování (Hrabě et al., 2005).

Druh	Obsah tuku (% hm.)	Obsah bílkovin (% hm.)
Vypichované	0 - 20	7,0 – 8,0
Lisované	15 - 30	8,0 – 9,0
Řezané	15 – 30	7,0 – 8,0
Stříkané	nad 30	7.5 – 8,5

Vypichování je tvarování vykrajováním ze stejnoměrného plátu těsta. Technologie lisování zahrnuje vtlačení těsta do tvarovaných prohlubní a jeho opětovné vytlačení otvorem požadovaného tvaru doprovázené procesem řezání na plátky. Při stříkání nebo také drezírování je řídké těsto s obsahem tuku nad 30 % hm. pod tlakem vstříkováno úzkými otvory (trubičkami) přímo na dopravní pás (Hrabě et al., 2005).

### 2.3.2 Sušenková náplň

Plněné sušenky a oplatky patří k jednomu z nejrozšířenějších typů trvanlivého pečiva, který je díky svým organoleptickým vlastnostem a množství variant oblíben všemi věkovými i sociálními vrstvami spotřebitelů. Krémové náplně jsou obvykle tvořeny zhruba ze dvou třetin cukru a jedné třetiny tuku. Poměr mezi těmito hlavními složkami v receptuře musí být vyrovnaný a je závislý na typu produktu. Například náplň pro takzvané sendvičové sušenky musí obsahovat více tuku (Battaiotto et al., 2013; Strong, 1988).

Cukerné ingredience mohou být použity v práškové nebo krystalické formě. Upřednostňována je menší velikost krystalů, neboť tyto jsou v ústech lépe rozpouštěny a nezpůsobují tak vjem písčitosti. Tuková složka má veliký vliv na texturní vlastnosti krému a tedy i finálních výrobků. Náplň musí být schopna udržet svůj tvar a pevnou konzistenci při pokojových skladovacích teplotách, jež fluktuují během různých ročních období, při rozlomení nebo ukousnutí pak nesmí docházet k jejímu vymáčknutí ven ze sušenky nebo oplatky. Z těchto důvodů jsou s výhodou používány směsi rostlinných a živočišných tuků o různém bodu tání. Pro usnadnění procesu plnění jsou vhodné suroviny se strmou křivkou tání. Rostlinné tukové složky (nejčastěji kosový a palmový tuk, sójový, řepkový, slunečnicový či bavlníkový olej) jsou většinou dodávány ztužené, tekuté oleje jsou spíše využívány pro sprejový postřik povrchu produktu. Živočišné tuky, máslo, sádlo a lůj, jsou uplatňovány zejména ve formě disperzí a emulzí. Jako alternativa tradičních tukových surovin byly s výhodou vyzkoušeny polyoly, především glycerol, které jsou schopny nahradit podstatnou část tuku v receptuře bez významného snížení obsahu vzduchu v krému (Battaiotto et al., 2013; Fileti et al., 1997; Hrabě et al., 2005).

Dalšími složkami náplně jsou voda, pojidla, emulgační a želírovací látky, dochucovadla a barviva. Malý přídavek vody je důležitý pro konzistenci krému. Jako pojidla jsou používány hydrokoloidy, jež mají schopnost vázat vodu a tím zvyšovat viskozitu náplně. Obvykle se jedná o kukuřičný, bramborový nebo rýžový škrob. Běžnými emulgátory jsou pak monoglyceroly nenasycených mastných kyselin (původem například z nízkoerukového

řepkového, sójového, slunečnicového a bavlníkového oleje) a sójový lecitin. Dochucovadla mohou být pouze přírodní nebo přírodně identická, mezi nejpoužívanější patří například vanilka, kakao, čokoláda, káva nebo ovocné složky a aromata (jahoda, banán) (Battaiotto et al., 2013; Fileti et al., 1997; Strong, 1988).

Plněné sušenky a oplatky jsou obvykle vyráběny separátně. Připravená náplň je temperována blízko teploty tání použitých tuků (obvykle 35 – 38 °C) a poté inkorporována do upečeného těsta (Strong, 1988).

Krémy sloužící k plnění sušenek a oplatků by mohly být také potenciálními nosiči funkčních složek. Borneo a kol. (2007) se například zabývali vývojem plněné sendvičové sušenky, jejíž náplň byla obohacena 400 mg  $\omega$ -3 nenasycených mastných kyselin, eikosapentaenové a dokosahexaenové. Připravené vzorky byly baleny v ochranné atmosféře, nebo ve vakuu a skladovány při 2 rozdílných teplotách (18 a 35 °C) po dobu 28 d. Poté byla provedena jejich sensorická analýza zdravými hodnotiteli a pacienty trpícími žaludečními vředy. Obě skupiny respondentů přijaly sušenky obohacené o  $\omega$ -3 nenasycené mastné kyseliny stejně dobře jako standardní produkt (Borneo et al., 2007; Ekinci et al., 2008). Vzhledem k dobré životaschopnosti probiotických kultur ve vysokotučných výrobcích (tato problematika byla podrobně popsána v kap. 3.2) by mohly být sušenkové a oplatkové náplně taktéž s výhodou použity jako nosiče probiotik, avšak studie zaměřené na tuto oblast zatím nejsou k dispozici.

### 3 Závěr

Cílem bakalářské práce bylo shrnout současné poznatky o růstu a přežívání probiotik v matici vysokotučných potravin, zejména mléčných, jež by mohly být využity k vývoji probiotické sušenkové náplně na mléčném základu. Hypotézou bylo, že tyto výrobky mohou být dobrým potravinářským nosičem probiotických kmenů bakterií.

Jako probiotiké jsou označovány mikroorganismy, které po požití v určitém množství přežívají průchod trávicím traktem člověka a poskytují mu následně zdravotní benefity nad rámec vlastní základní výživy. V potravinářství jsou využívány zejména probiotické kmeny bakterií mléčného kvašení, nejčastěji rodů *Lactobacillus*, *Streptococcus* a *Bifidobacterium*. Na výzkum aplikačních možností těchto kultur do různých mléčných i nemléčných potravinářských matric je zaměřena řada studií, neboť je žádoucí rozšiřovat portfolium produktů s přidanou hodnotou určených k lidské výživě.

Obecně lze říci, že vyšší obsah tuku v potravině je pro zachování vitality probiotik příznivý, neboť působí jako přirozená ochrana buněk rozptýlených ve vodné fázi. V případě nemléčných matric byly jako vhodné potravinářské nosiče probiotických mikroorganismů označeny dresink a čokoláda. Nejlepšími nosiči probiotických kultur jsou však stále mléčné produkty. Z tradičních lze jmenovat fermentované mléčné výrobky, konkrétně jogurt, jehož organoleptické vlastnosti jsou snadno optimalizovatelné, a sýry. Stále oblíbenější jsou též probiotické mražené krémy, ačkoli jejich produkce je ze sensorického hlediska poměrně náročná. Dobrých výsledků bylo dále dosaženo při aplikaci probiotického kmene *L. paracasei* subsp. *paracasei* LBC 82 v kombinaci s inulinem do smetanového šlehaného dezertu.

Sušenky, oplatky a zejména krémy k jejich plnění představují další kategorii potravinářských matric, jež by bylo kvůli jejich oblíbenosti výhodné využít jako nosiče funkčních složek. Ačkoli studie zabývající se inkorporací probiotik do těchto výrobků dosud nejsou k dispozici, na základě dostupné literatury je lze označit jako k tomuto účelu vhodné. Potenciál mají zejména vysokotučné náplně na smetanové, jogurtové nebo tvarohové bázi a čokoláda využitá jako součást sušenkového těsta, náplně či jako poleva. Lze tedy konstatovat, že hypotéza práce byla splněna.

## 4 Seznam literatury

ADA – American Dietetic Association. 2009. Position of the American Dietetic Association: functional foods. *Journal of American Diet Association*. 109. 735-746.

Akin, M. B., Akin, M. S., Kirmaci, Z. 2007. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice cream. *Food Chemistry*. 104. 93-99.

Almeida, M. H. B., Cruz, A. G., Faria, J. A. F., Moura, M. R.L., Carvalho, L. M.J., Freitas, M. C. J. 2009. Effect of the açai pulp on the sensory attributes of probiotic yogurts. *International Journal of Probiotic and Prebiotic*. 4. 41-44.

Allgeyer, L. C., Miller, M. J., Lee, S.-Y. 2009. Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics. *Journal of Dairy Science*. 93. 4471-4479.

Battaiotto, L. L., Lupano, C. E., Bevilacqua, A. E. 2013. Optimization of Basic Ingredient Combination for Sandwich Cookie Filling Using Response Surface Methodology. *Food and Bioprocess Technology*. 6 (7). 1847-1855.

Bartošová, L. Účinky živých bakterií v potravinách [online]. Státní zemědělská a potravinářská inspekce. 2009 [cit. 2015-05-14]. Dostupné z:

< <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1000465&docType=ART&nid=12076>>

Bengmark, S. 1998. Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora. *Gut*. 42. 2-7.

Blanchette, L., Roy, D., Belanger, G., Gauthier, S. F. 1996. Production of cottage cheese using dressing fermented by bifidobacteria. *Journal of Dairy Science*. 79. 8-15.

Borneo, R., Kocer, D., Ghai, G., Tepper, B.J. 2007. Stability and Consumer Acceptance of Long-Chain Omega-3 Fatty Acids (Eicosapentaenoic Acid, 20: 5, n-3 and Docosahexaenoic Acid, 22: 6, n-3) in Cream-Filled Sandwich Cookies. *Journal of Food Science*. 72 (1). 49-54.



Cardarelli, H. R., Aragon-Alegro, L. C., Alegro, J. H. A., de Castro, I. A., Saad, S. M. I. 2008a. Effect of inulin and *Lactobacillus paracasei* on sensory and instrumental texture properties of functional chocolate mousse. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 88 (8). 1318-1324.

Cardarelli, H. R., Buriti, F. C. A., Castro, I. A., Saad, S. M. I. 2008b. Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially synbiotic petit-suisse cheese. *LWT—Food Science and Technology*. 41. 1037-1046.

Cruz, A. G., Antunes, A. E. C., Sousa, A. L. O. P., Faria, J. A. F., Saad, S. M. I. 2009. Ice cream as probiotic food carrier. *Food Research International*. 42. 1233-1239.

Česko. Vyhláška č. 77 ze dne 27. března 2003, kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje. In: *Sbírka zákonů České Republiky*. 2003. částka 32. s. 2488. Dostupné také z:

<[http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/Legislativa-MZe\\_uplna-zneni\\_vyhlaska-2003-77-potravinovy.html](http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/Legislativa-MZe_uplna-zneni_vyhlaska-2003-77-potravinovy.html)>

Česko. Vyhláška č. 333 ze dne 12. prosince 1997, kterou provádí §18 písm. a), d), h), i), j) a k) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro mlýnské obilné výrobky, těstoviny, pekařské výrobky a cukrářské výrobky a těsta. In: *Sbírka zákonů České Republiky*. 1997. částka 111. Dostupné také z:

<[http://eagri.cz/public/web/ws\\_content?contentKind=regulation&section=1&id=45787&name=333/1997](http://eagri.cz/public/web/ws_content?contentKind=regulation&section=1&id=45787&name=333/1997)>

Česko. Vyhláška č. 336 ze dne 29. října 2013, kterou se stanoví požadavky pro mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje, ve znění pozdějších předpisů. In: *Sbírka zákonů České Republiky*. 2013. částka 130. s. 5969. Dostupné také z:

<[http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/chronologicky-prehled/Legislativa-MZe\\_puvodni-zneni\\_vyhlaska-2013-336-novela-77-2003.html](http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/chronologicky-prehled/Legislativa-MZe_puvodni-zneni_vyhlaska-2013-336-novela-77-2003.html)>

- Davidson, R. H., Duncan, S. E., Hackney, C. R., Eigel, W. N., Boling, J.W. 2000. Probiotic culture survival and implications in fermented frozen yogurt characteristics. *Journal of Dairy Science*. 83. 666-673.
- Ekinci, F. Y., Okur, O. D., Ertekin, B., Guzel-Seydim, Z. 2008. Effects of probiotic bacteria and oils on fatty acid profiles of cultured cream. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 110 (3). 216-224.
- Favaro-Trindade, C. S., Bernardi, S., Bodini, R. B., Balieiro, J. C. C., Almeida, E. 2006. Sensory acceptability and stability of probiotic microorganisms and vitamin C in fermented acerola (*Malpighia emarginata* DC.) ice cream. *Journal of Food Science*. 71. 492-495.
- Fileti, Ch. M., Gill, R. C., Ramundo, M. J., Renini, L. K.. Filler cream compositions for reduced fat sandwich cookies. USA. US5612078 A. Mar 18, 1997.
- Fuchs, M. MUDr. 2009. Lze alergiím předcházet? *Pediatric pro praxi*. 10 (2). 82-86.
- Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*. 66. 365-378.
- Fuller, R., 1991. Probiotics in human medicine. *Gastroenterology*. 126 (6). 1620-1633.
- Guarner, F., Schaafsma, G.J. 1998. Probiotics. *International Journal of Food Microbiology*. 39 (3). 237-238. ISSN 0168-1605.
- Granato, D., Branco, G. F., Cruz, A. G., de Assis Fonseca Faria, J., Shah, N. P. 2010. Probiotic dairy products as functional foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 9 (5). 455-470.
- Grofová, Z. 2010. Probiotika a jejich vliv na dyslipidemii a diabetes. *Medicína pro praxi*. 7 (5). 233-234.
- Hekmat, S., McMahon, D. J. 1992. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. *Journal of Dairy Science*. 75 (6). 1415-1422.

Hekmat, S., Reid, G. 2006. Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. *Nutrition Research*. 26. 163-166.

Hermann, F., Spieker, L. E., Ruschitzka, F., Sudano, I., Hermann, M., Binggeli, C., Luscher, T. F., Riesen, W., Noll, G., Corti, R. 2006. Dark chocolate improves endothelial and platelet function. *Heart*. 92. 119-120.

Horáčková, Š. 2010. *Mlékařské listy*. Nové trendy v probiotikách. 120. 19-22.

Hrabě, J., Rop, O., Hoza, I. 2005. *Technologie výroby potravin rostlinného původu: bakalářský stupeň*. Zlín. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. 178 s. Učební texty vysokých škol. ISBN 8073183722.

Kailasapathy, K., Chin, J. 2000. Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Immunology and Cell Biology*. 78. 80-88.

Klu, Y. A. K., Phillips, R. D., Chen, J. 2014. Survival of four commercial probiotic mixtures in full fat and reduced fat peanut butter. *Food Microbiology*. 44. 34-40.

KMPG. The chocolate of tomorrow [online]. KMPG. 2012 [cit. 2015-10-31]. Dostupné z: [http://www.kpmg.com/CZ/cs/IssuesAndInsights/ArticlesPublications/Press-releases/Documents/KPMG\\_The-chocolate-of-tomorrow.pdf](http://www.kpmg.com/CZ/cs/IssuesAndInsights/ArticlesPublications/Press-releases/Documents/KPMG_The-chocolate-of-tomorrow.pdf)

Knorr, D. 1998. Technology aspects related to microorganisms in functional foods. *Trends in Food Science and Technology*. 9. 295-306.

Maekivuokko, H., Kettunen, H., Saarinen, M. 2007. The effect of cocoa and polydextrose on bacterial fermentation in gastrointestinal tract simulations. *Bioscience, Biotechnology, biochemie*. 71 (8). 1834-1843.

Majamaa, H., Isolauri, E. 1997. Probiotics: A novel approach in the management of food allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 99. 179-185.

- Mantzouridou, F., Spanou, A., Kiosseoglou, V. 2012. An inulin-based dressing emulsion as a potential probiotic food carrier. *Food Research International*. 46 (1). 260-269.
- Maragkoudakisa, P. A., Miarisa, C., Rojeza, P., Manalisb, N., Magkanarib, F., Kalantzopoulou, G., Tsakalidou, E. 2006. Production of traditional Greek yogurt using *Lactobacillus* strains with probiotic potential as starter adjuncts. *International Dairy Journal*. 16 (1). 52-60.
- McIntosh, G. H. 1996. Probiotic and colon cancer prevention. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 5. 48-52.
- Pedroso, D. L., Dogenski, M., Thomazini, M., Heinemann, R. J. B., Favaro-Trindade, C. S. 2013. Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* and *Lactobacillus acidophilus* in cocoa butter using spray chilling technology. *Brazilian Journal of Microbiology*. 44 (3). 777-783.
- Roberfroid, M. B. 2002. Functional food concept and its application to prebiotics. *Digestive and Liver Disease*. 34. 105-110.
- Strong, D. R. Process for making coextruded filled cookies. USA. US4762723 A. Aug 9, 1988.
- Stanton, C., Gardiner, G., Lynch, P. B., Collins, J. K., Fitzgerald, G., Ross, R.P. 1998. Probiotic Cheese. *International Dairy Journal*. 8. 491-496.
- Tárrega, A., Costell, E. 2006. Effect of inulin addition on rheological and sensory properties of fat-free starch-based dairy desserts. *International Dairy Journal*. 16. 1104-1112.
- Vinderola, G., Prosello, W., Molinari, F., Ghilberto, D., Reinheimer, J. 2009. Growth of *Lactobacillus paracasei* A13 in Argentinian probiotic cheese and its impact on the characteristics of the product. *International Journal of Food Microbiology*. 135. 171-174

Vlachopoulos, C., Aznaouridis, K., Alexopoulos, N., Economou, E., Andreadou, I., Stefanadis, C. Effect of dark chocolate on arterial function in healthy individuals. *American Journal of Hypertension*. 18. 785-791.

de Vrese, M., Stegelmann, A., Richter, B., Fenselau, S., Laue, Ch., Schrezenmeir, J. 2001. Probiotics—compensation for lactase insufficiency. *American Society for Clinical Nutrition*. 73 (2). 421-429.

## **5 Zkratky**

PE – pseudomembranózní enterokolitida