

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ  
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**BRNO 2016**

**ŽANETA GROLIGOVÁ**

**Mendelova univerzita v Brně**  
**Agronomická fakulta**  
**Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin**

---



**Rod *Lactobacillus* a jeho význam v potravinářství**  
Bakalářská práce

*Vedoucí práce:*  
Ing. Libor Kalhotka, PhD.

*Vypracovala:*  
Žaneta Groligová

---

Brno 2016

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

### Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci na téma rod *Lactobacillus* a jeho význam v potravinářství vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne: .....

.....  
podpis

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych upřímně poděkovala Ing. Liboru Kalhotkovi, Ph.D., vedoucímu mé bakalářské práce, za jeho ochotné vedení, cenné a odborné rady, zapůjčení literárních pramenů a za jeho pomoc v laboratoři při mikrobiologické analýze. Dále bych velmi ráda poděkovala svým rodičům, za jejich psychickou i finanční podporu během celého studia.

## **ABSTRAKT**

Tato práce charakterizuje rod *Lactobacillus*, jeden z řady bakterií mléčného kvašení. Blíže specifikuje jeho významné druhy v potravinářství. Dále se práce zabývá výskytem a významem laktobacilů převážně v potravinách, ale také v souvislosti s lidským organismem, zvířaty a též s rostlinnými materiály. Práce popisuje příznivý vliv laktobacilů na lidský organismus. Popsán je i vliv negativní, a to převážně z pohledu kažení potravin. Závěrem této práce je praktická část, kde se práce soustředí na stanovení tohoto rodu v syrovém kozím a kravském mléce a v acidofilním mléce.

**KLÍČOVÁ SLOVA:** laktobacily, bakterie mléčného kvašení, mléko, potraviny.

## **ABSTRACT**

This thesis characterizes the genus *Lactobacillus*, one of a series of lactic acid bacteria. It specifies the bacteria significant species in the food industry. Furthermore, the thesis deals with the occurrence and importance of lactobacilli, mainly in food but also in relation to the human organism, animals and plant materials. The thesis describes the positive influence of lactobacilli on the human organism. A negative impact is described too, primarily from the perspective of food spoilage. In the conclusion of the thesis the practical part focuses mainly on the determination of this genus in raw goat's and cow's milk and in acidified milk.

**KEYWORDS:** lactobacilli, lactic acid bacteria, milk, food.

<b>1 ÚVOD.....</b>	<b>8</b>
<b>2 CÍL PRÁCE.....</b>	<b>9</b>
<b>3 LITERÁRNÍ PŘEHLED .....</b>	<b>10</b>
3.1 Obecná charakteristika rodu <i>Lactobacillus</i> .....	10
3.1.1 Taxonomie .....	10
3.1.2 Charakteristické vlastnosti rodu <i>Lactobacillus</i> .....	10
3.1.3 Metabolizmus.....	12
3.1.3.1 Třídění laktobacilů.....	16
3.2 Charakteristika potravinářsky významných druhů rodu <i>Lactobacillus</i> .....	19
3.2.1 <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	19
3.2.2 <i>Lactobacillus casei</i> .....	20
3.2.3 <i>Lactobacillus helveticus</i> .....	21
3.2.4 <i>Lactobacillus plantarum</i> .....	22
3.2.5 <i>Lactobacillus delbrueckii</i> .....	23
3.2.5.1 <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> .....	23
3.2.5.2 <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i> .....	24
3.3 Výskyt a význam rodu <i>Lactobacillus</i> v potravinářství .....	24
3.3.1 Mléko a mléčné výrobky .....	24
3.3.1.1 Sýry .....	25
3.3.1.2 Jogurt .....	25
3.3.1.3 Kefír .....	26
3.3.2 Maso a masné produkty .....	26
3.3.3 Ryby a rybí výrobky .....	27
3.3.4 Rostlinné materiály .....	27
3.4 Výskyt a význam rodu <i>Lactobacillus</i> u lidí a zvířat .....	28
3.4.1 Gastrointestinální trakt.....	28
3.4.1.1 Probiotika a prebiotika.....	29
3.4.2 Vagina žen .....	30
3.4.3 Ústní mikroflóra.....	30
3.5 Negativní působení rodu <i>Lactobacillus</i> .....	31
<b>4 MATERIÁL A METODIKA.....</b>	<b>32</b>
4.1 Charakteristika vzorků.....	32
4.2 Příprava laboratorních pomůcek.....	33
4.3 Složení a příprava živného média.....	33
4.4 Postup mikrobiologické analýzy.....	34
4.5 Způsob vyjádření výsledků.....	34
<b>5 VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>35</b>

<b>6 ZÁVĚR .....</b>	<b>38</b>
<b>7 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>39</b>
<b>8 SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>43</b>
<b>9 SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>44</b>



## 1 ÚVOD

Rod *Lactobacillus* se řadí do skupiny bakterií mléčného kvašení. Podle typu tohoto kvašení rozdělujeme laktobacily na homofermentativní, heterofermentativní a fakultativně heterofermentativní. Nejčastěji jsou to delší tyčinky, které jsou seskupeny do tvarů připomínající řetízky. Většinou jsou mikroaerofilní a rostou v mezofilních teplotách. Jsou to velmi náročné mikroorganismy, které požadují pro svoji existenci komplexní, bohatá média.

Mezi potravinářsky nejvýznamnější druhy z rodu *Lactobacillus* řadíme *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. helveticus*, *L. plantarum*, *L. delbrueckii* a další. Laktobacily jsou hojně rozšířeny v přírodě. Důležité je jejich zastoupení v mléce, protože díky jejich schopnosti fermentovat laktózu vyrábíme řadu kysaných mléčných výrobků. Zástupce tohoto rodu najdeme také v mnohých kulturách, potřebných pro výrobu různých druhů sýrů. V masě a masných výrobcích jsou součástí jejich přirozené mikroflóry a jsou důležité pro jejich správné zrání a fermentaci. V rybách a rybích produktech se významně podílejí na jejich kažení. V rostlinných materiálech se nacházejí v menším množství, to ale neplatí u rostlinných materiálů, které jsou ve fázi rozkladu. Důležité jsou laktobacily také z hlediska konzervace potravin, především při konzervaci zelí, okurek, masa apod. V potravinách a nápojích s sebou laktobacily přinášejí i nevíтанé změny. Mohou způsobovat změny chuti, tvorbu slizu, plynu a u masných výrobků i zezelenání. Jsou schopné tvořit biogenní aminy. Podílejí se na kažení potravin a krmiv.

Laktobacily se nacházejí i u lidí a zvířat, a to především v gastrointestinálním traktu, ústní dutině a vagíně žen. Důležité je jejich příznivé působení na lidský organismus. Mnohé mají probiotické vlastnosti, které napomáhají udržení správné rovnováhy střevní mikroflóry.

## 2 CÍL PRÁCE

Cílem této bakalářské práce je:

- zpracovat literární rešerši, v níž budou shrnuty poznatky o bakteriích rodu *Lactobacillus*,
- zaměřit se na významné druhy laktobacilů v potravinářství,
- popsat výskyt a význam v potravinářství a pro lidský organismus,
- popsat možné negativní působení,
- stanovit laktobacily ve vybraných druzích mléka,
- vyhodnotit a zpracovat získaná data a uvést výsledky.

## 3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 3.1 Obecná charakteristika rodu *Lactobacillus*

#### 3.1.1 Taxonomie

Taxonomie může být definována jako proces zařazování organismů do klasifikačního systému a studium jejich rozmanitosti, s cílem je charakterizovat a klasifikovat (Schleifer, Ludwig, 1994). Rod *Lactobacillus* patří do kmene *Firmicutes*, třídy *Bacilli*, řádu *Lactobacillales* a čeledě *Lactobacillaceae* (Dellaglio, Felis, 2005). Poprvé byl tento rod popsán v roce 1901, kdy Martinus Willem Beijerinck představil tento název bakterií izolovaných z různých fermentujících materiálů (Barinov et al., 2011). Rod *Lactobacillus* zahrnuje 106 popsáných druhů, čímž je nejpočetnějším rodem z řádu *Lactobacillales*. Druhy rodu *Lactobacillus* představují jeden z nejdůležitějších taxonů v potravinářské mikrobiologii s významnou úlohou v lidské výživě (Dellaglio, Felis, 2005).

#### 3.1.2 Charakteristické vlastnosti rodu *Lactobacillus*

Název rodu *Lactobacillus* je odvozen z latinského slova *lac* = mléko. Do tohoto rodu zařazujeme mléčné bakterie (Sedláček, 2007), které se od sebe liší tvarem. Mohou být dlouhé a tenké, zahnuté, krátké nebo koryneformní (Hammes, Hertel, 2009). Nejčastěji tvoří na pevné kultivační půdě tenké delší tyčinky (Klaban, 2011). Délka tyčinek a stupeň zakřivení závisí na stáří kultury, složení média a množství kyslíku (Hammes, Hertel, 2009). Někdy mohou mít i tvar kokovitý (Sedláček, 2007). Laktobacily jsou často seskupeny do řetízků (Klaban, 2011). Jejich tendence k vytváření těchto řetízků závisí na fázi růstu a pH daného média (Hammes, Hertel, 2009). Laktobacily jsou grampozitivní a nemají schopnost tvořit spory (Klaban, 2011). Pouze zřídka se pohybují, a to pomocí peritrichálních bičků. (Sedláček, 2007). Pohyblivost laktobacilů je pozorovatelná pouze u několika málo druhů a závisí na médiu a stáří kultury. Někdy bývá pozorovatelná při izolaci, ale po několikátém převedení na umělá média se tato schopnost ztrácí (Hammes, Hertel, 2009). Z hlediska nároků na kyslík je považujeme za mikroaerofilní nebo fakultativně či striktně anaerobní (Klaban, 2011). Mikroaerofilní bakterie rostou na vzduchu slabě. Lépe rostou při redukované koncentraci kyslíku (Sedláček, 2007). Striktně aerobní podmínky růst inhibují (Hammes, Hertel, 2009). Optimální pH pro laktobacily je obvykle mezi 5,5 – 6,2 (Sedláček, 2007), tedy v prostředí mírně kyselém. K zastavení růstu běžně dochází

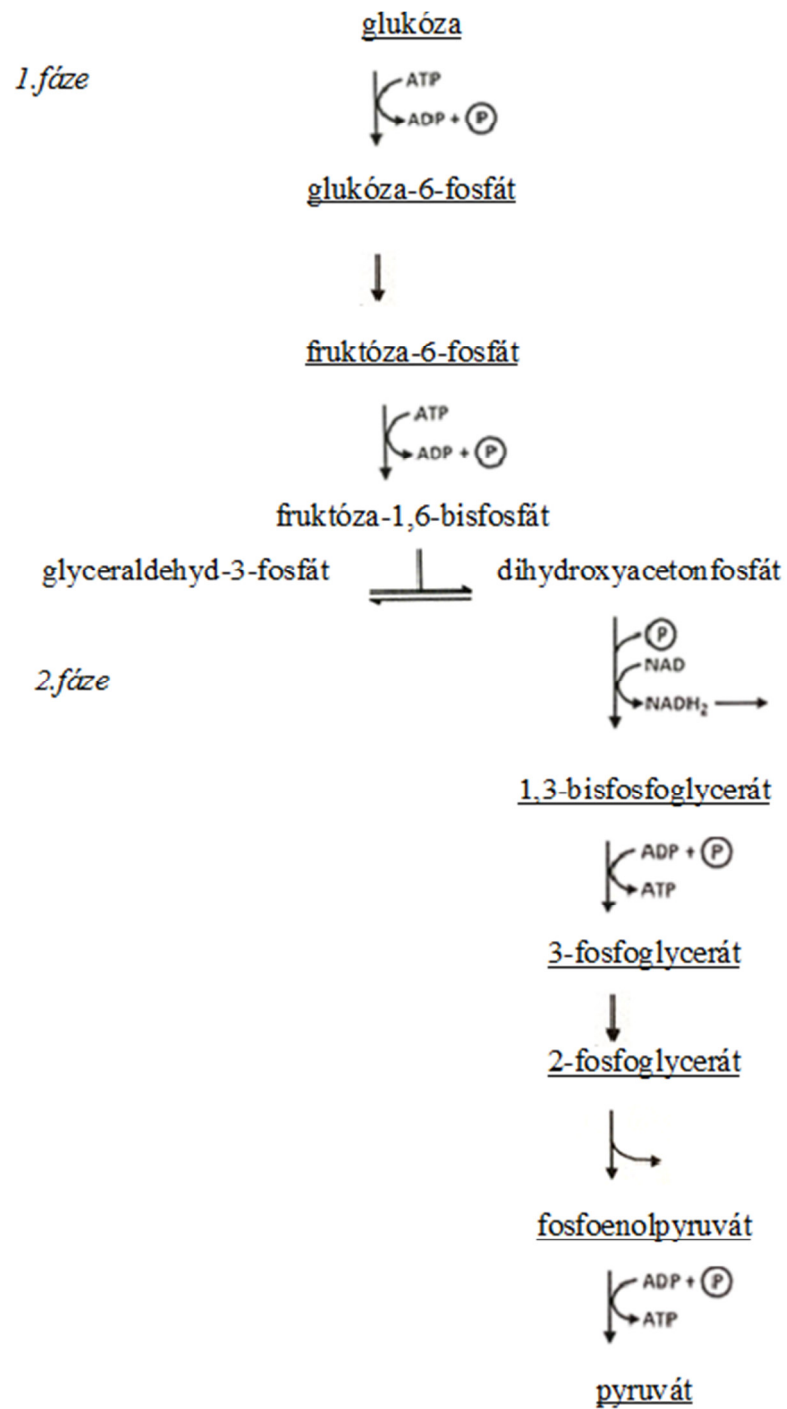
při hodnotách pH 3,6 – 4,0 v závislosti na druhu a kmeni. Výjimku tvoří např. *Lactobacillus suebicus*, který roste v ovocných kaších dokonce při pH 2,8. Podobnou toleranci mají i kmeny *L. casei* a *L. plantarum*. Nejvíce laktobacilů roste nejlépe v mezofilních teplotách (Hammes, Hertel, 2009). Nejvhodnější teplotou pro jejich růst je 30 – 40 °C (Sedláček, 2007). Některé druhy mohou růst i pod teplotou 15 °C, naopak termofilní laktobacily, které pod 15 °C růst nemohou, mají posunutý horní limit až na 55 °C. Při růstu v běžném médiu nevytvářejí žádné charakteristické pachy. Pokud růst probíhá v potravinách, produkují těkavé sloučeniny, které buď přispívají ke kažení potravin, nebo tvoří požadované příjemné aroma fermentovaných výrobků. Meziprodukty metabolismu sacharidů jsou diacetyl, kyselina octová a acetaldehyd a produkty katabolismu aminokyselin jsou H<sub>2</sub>S, aminy, karbonylové sloučeniny, kresol, skatol, bezaldehyd a methanethiol. Jejich koncentrace je silně ovlivněna potenciálem kmene a faktory životního prostředí, jako jsou pH, vodní aktivita, teplota a přítomnost elektro-nových akceptorů (Hammes, Hertel, 2009).

Laktobacily jsou extrémně náročné organismy (Hammes, Hertel, 2009), které vyžadují bohatá komplexní média (Sedláček, 2007). Jejich požadavky na základní živiny jsou obvykle splněny, pokud média obsahují zkvasitelné sacharidy, pepton, masový a kvasničný extrakt. Vyžadují sacharidy jako zdroj energie a uhlíku, dále nukleotidy, aminokyseliny a vitaminy. Téměř pro všechny druhy je nezbytná kyselina pantothenová a nikotinová. Pro růst heterofermentativních laktobacilů je nezbytný thiamin (Hammes, Hertel, 2009). K pěstování laktobacilů se používá pevná nebo tekutá půda, zejména MRS nebo agarová půda dle Rogosy. Půda MRS, která může být pevného i tekutého charakteru, obsahuje tyto komponenty: pepton, masový extrakt, kvasniční extrakt, glukózu, tween 80, hydrogenfosforečnan draselný, citran amonný, octan sodný, síran manganatý a síran hořečnatý. Pevná půda MRS obsahuje navíc 1,5 – 1,8 % agaru. Podobné složení má i půda dle Rogosy, která ale neobsahuje pepton ani masový extrakt, ale navíc obsahuje trypton, kyselinu octovou a síran železnatý (Klaban 2011).

Rod *Lactobacillus* je široce rozšířen v prostředí, obzvláště v nejrůznějších potravinách živočišného nebo rostlinného původu. Nachází se v mléčných výrobcích, obilných produktech, pivu, víně, ovoci a ovocných šťávách, nakládané zelenině apod. Vyskytuje se i v čisté a znečištěné vodě, silážích a půdě. Nalézt ho můžeme i v přirozené mikroflóře úst, intestinálním traktu a vagíně žen a zvířat. Pouze vzácně jsou patogenní, a to u nemocných jedinců. Většina z nich patogenitu nevykazuje (Hammes, Hertel, 2009; Sedláček, 2007).

### 3.1.3 Metabolizmus

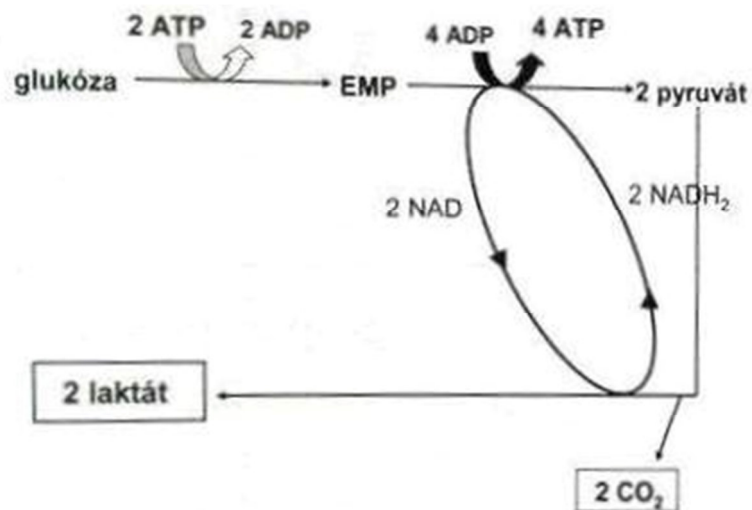
V buňkách mikroorganismů zajišťuje neustálá přeměna látek, tzv. metabolismus, dostatečné množství energie a stavebního materiálu pro veškeré životní projevy. Metabolismus je silně ovlivněn vnějšími podmínkami (Šilhánková, 1995). Základním anaerobním katabolickým procesem sacharolytických mikroorganismů je tzv. glykolýza (viz obr. 1) neboli Embden – Mayerhofova metabolická dráha (Šilhánková, 1995), vedoucí k vytvoření pyruvátu (Němec, Matoulková, 2015), přeměnou hexóz, jako je glukóza, fruktóza, manóza nebo galaktóza (Šilhánková, 1995). Pyruvát má po fermentaci klíčové postavení a jsou z něj vytvářeny různé konečné produkty, které potom označují jednotlivé typy kvašení. Kvašení je tedy metabolický proces, jehož cílem je vytvoření ATP. (Němec, Matoulková, 2015). Čistý zisk při odbourání molekuly hexózy jsou 2 ATP (Kalhotka, Tesařová, 2014).



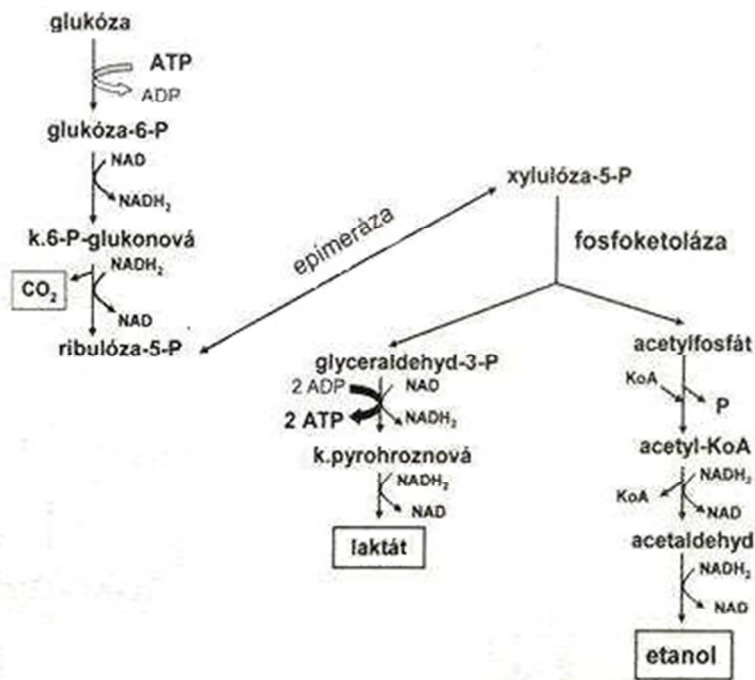
Obr. 1 Schéma glykolýzy (upraveno dle Bursová et al., 2014).

Nejvýznamnějším kvašením v potravinářství je kvašení mléčné, které je typické pro fyziologickou skupinu mléčných bakterií (BMK). Tyto bakterie jsou charakteristické především značnými nároky na živiny a energii získávají pouze kvašením (Němec, Matoulková, 2015). Mléčné kvašení rozdělujeme na:

- homofermentativní – vzniká pouze kyselina mléčná redukcí pyruvátu (EMP dráha)
- heterofermentativní (fosfoketolázová dráha) – v níž vedle kyseliny mléčné vznikají ještě další produkty – ethanol,  $\text{CO}_2$ , kyselina octová, kyselina mléčná (Klaban, 2011; Němec, Matoulková, 2015; Šilhánková, 1995;).



Obr. 2 Schéma homofermentativního mléčného kvašení glukózy (upraveno dle Němec, Matoulková, 2015).



Obr. 3 Schéma heterofermentativního mléčného kvašení glukózy (upraveno dle Němec, Matoulková, 2015).

U homofermentativních mléčných bakterií je pyruvát vzniklý glykolózou redukován za součinnosti redukováního kofaktoru v laktát, tj. anion mléčné kyseliny (Šilhánková, 1995). Při heterofermentativním kvašení vzniká ve fosfoketolázové dráze 1 mol  $\text{CO}_2$ , 1 mol ethanolu (nebo kyseliny octové) a 1 mol kyseliny mléčné. Vzniklý pyruvát se při obou druhích fermentace dále metabolizuje za vzniku různých terminálních produktů, jako je kyselina octová, ethanol nebo známá aromatická látka diacetyl a jeho deriváty. Při omezeném přístupu k hexózám se homofermentace mění na heterofermentaci s terminálními produkty jako je kyselina mravenčí, octová a ethanol. Přitom se může částečně oxidovat i laktát za vzniku kyseliny mravenčí, octové nebo  $\text{CO}_2$ . Skupina homofermentativních laktobacilů má schopnost fermentovat pentózy heterofermentativně za vzniku kyseliny mléčné a octové, ale hexózy fermentuje homofermentativně, což je důvodem pro její pojmenování „fakultativně heterofermentativní laktobacily“ (Görner, Valík, 2004).

Homofermentativní mléčné bakterie se používají pro kvasnou výrobu mléčné kyseliny. Při konzervaci okurek, zelí a zelené píce (tzv. silážování) se uplatňuje samovolné mléčné kvašení, které zabraňuje rozvoji hnilobných bakterií (Šilhánková, 1995).



### 3.1.3.1 Třídění laktobacilů

Laktobacily můžeme podle způsobu mléčné fermentace rozdělit do tří skupin. První skupina, do které řadíme obligátně homofermentativní laktobacily, fermentuje hexózy na kyselinu mléčnou podle EMP dráhy. Pentózy a glukonáty nefermentuje (Görner, Valík, 2004). Druhy laktobacilů, jejich výskyt a další charakteristiky uvádí tabulka 1.

Tab. 1 Obligátně homofermentativní laktobacily (upraveno dle Görner, Valík, 2004).

Druh, ssp.	Výskyt a jiné charakteristiky
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i>	Rostlinný materiál fermentovaný při vyšších teplotách (40 – 53°C)
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	Jogurt a sýry.
<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i>	Kysané mléko, sýry, lisované kvasnice, obilné zápary
<i>L. helveticus</i>	Kysané mléko, tvrdé sýry (ementálský typ), ementálská kultura, maximální teplota pro růst 50 – 52 °C
<i>L. acidophilus</i>	Intestinální trakt lidí a zvířat, ústní dutina lidí
<i>L. salivarius</i>	Ústní dutina a intestinální trakt lidí a drůbeže
<i>L. farciminis</i>	Masné výrobky (tepelně neopracované), pekárenský kvas, snáší 10 – 12 % NaCl
<i>L. yamanashiensis</i>	Jablečný mošt a víno, hroznový mošt

Druhá skupina, do které řadíme fakultativně heterofermentativní laktobacily, fermentuje hexózy na kyselinu mléčnou podle EMP dráhy. Při nedostatku glukózy produkují některé druhy kyselinu octovou, mravenčí a ethanol. Pentózy fermentuje pomocí indukovatelné fosfoketolázy (Görner, Valík, 2004). Druhy laktobacilů, jejich výskyt a další charakteristiky uvádí tabulka 2.

Tab. 2 *Fakultativně heterofermentativní laktobacily* (upraveno dle Görner, Valík, 2004).

<b>Druh, ssp.</b>	<b>Výskyt a jiné charakteristiky</b>
<i>L. alimentarius</i>	Marinované rybí produkty, masné výrobky (tepelně neopracované, plátkové balené uzeniny), pekárenský kvas, roste při 10 % NaCl; tvoří acetoin
<i>L. bavaricus (L. sake)</i>	Kysané zelí, růst mezi 2 – 37 °C
<i>L. casei ssp. casei</i>	Mléko, sýry, mléčné výrobky, pekárenský kvas, kravský hnůj, siláž, intestinální trakt a ústní dutina lidí
<i>L. casei ssp. pseudoplantarum</i>	viz <i>L. casei ssp. casei</i>
<i>L. casei ssp. rhamnosus</i>	viz <i>L. casei ssp. casei</i> ; jako jediný laktobacil roste při teplotách 15 i 45 °C
<i>L. casei ssp. tolerans</i>	viz <i>L. casei ssp. casei</i> ; přežívá pasteraci (72 °C, 40 s)
<i>L. curvatus</i>	Mléko, siláž, kravský hnůj, kysané zelí, masné výrobky, pekárenský kvas
<i>L. maltaromaticus</i>	Izolovaný z mléka se sladovou pachutí
<i>L. plantarum</i>	Mléčné výrobky, siláž, kysané zelí, kysaná zelenina, pekárenský kvas, lidský intestinální trakt, ústní dutina, kravský hnůj
<i>L. sake (L. bavaricus)</i>	Kysané zelí a jiné fermentované vegetabilní potraviny, masné výrobky, pekárenský kvas; původně izolovaný z kvasnic na výrobu japonského sake; roste i při 2 – 4 °C

Třetí skupina, do které řadíme obligátně heterofermentativní laktobacily, fermentuje hexózy na kyselinu mléčnou, octovou (ethanol) a CO<sub>2</sub>. Pentózy fermentuje na kyselinu mléčnou a kyselinu octovou (Görner, Valík, 2004). Druhy laktobacilů, jejich výskyt a další charakteristiky uvádí tabulka 3.

Tab. 3 Obligátně heterofermentativní laktobacily (upraveno dle Görner, Valík, 2004).

Druh, ssp.	Výskyt a jiné charakteristiky
<i>L. bifermetas</i>	Pokud je v médiu > 1 % fermentuje hexózy, je heterofermentativní, mléčan fermentuje na kyselinu octovou, ethanol, CO <sub>2</sub> a H <sub>2</sub> při pH > 4, izolovaný z holandských sýrů s malými trhlinami
<i>L. brevis</i>	Mléko, sýry, kysané zelí, pekárenský kvas, siláž, intestinální trakt a ústní dutina lidí
<i>L. buchneri</i>	Mléko, sýry, fermentující vegetabilní materiál, lidská ústní dutina
<i>L. confusus (Weissella confusa)</i>	Cukrová třtina, mrkvovalá šťáva, příležitostně v syrovém mléce a slinách; ze sacharózy produkuje dextran
<i>L. divergens (Carnobacterium divergens)</i>	Vakuově balené chlazené maso
<i>L. fermentum</i>	Kvasnice, mléčné výrobky, pekárenský kvas, fermentovaný rostlinný materiál, kravský hnůj, intestinální trakt a ústní dutina lidí
<i>L. fructivorans</i>	Kazící se majonéza, salátové dresinky, octem okyselené prezervy; kazící se dezertní vína a aperitivy; upřednostňuje pH 5,0 – 5,5, neroste při vyšším počátečním pH než 6,0
<i>L. halotolerans (Weissella halotolerans)</i>	Masné výrobky; roste za přítomnosti 12 % a velmi pomalu při 14% NaCl
<i>L. kandleri</i>	Produkce slizu ze sacharózy
<i>L. kefir</i>	Kefírové zrna a kefir
<i>L. reuteri</i>	Masné produkty, lidské a zvířecí fekálie
<i>L. sanfranciscensis (syn. L. sanfrancisco)</i>	Pekárenský kvas
<i>L. viridescens (Weissella viridescens)</i>	Nepřirozeně vybarvené zrající masné produkty, pasterizované mléko

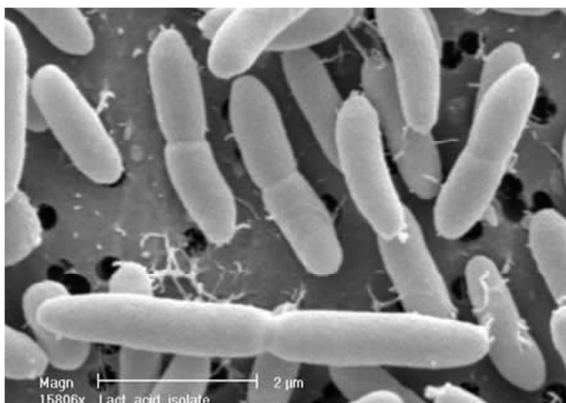
## 3.2 Charakteristika potravinářsky významných druhů rodu *Lactobacillus*

### 3.2.1 *Lactobacillus acidophilus*

*Lactobacillus acidophilus* jsou tyčinkovité bakterie o velikosti 0,6 – 0,9 x 1,5 – 6,0 µm bez granulace. Vyskytují se buď jednotlivě, ve dvojicích nebo jsou uspořádány v krátkých řetězích. Jejich optimální růstová teplota je 37 °C a jsou mikroaerofilní (Klaban, 2011).

*Lactobacillus acidophilus* je jedním z nejznámějších druhů rodu *Lactobacillus* (Ozogul, Hamed, 2011). Díky svým vhodným vlastnostem má rozsáhlé použití v mlékárenské výrobě, kde se uplatňuje při výrobě acidofilního mléka, podmáslí a smetany. Je zároveň součástí mikroflóry různých mléčných kysaných výrobků, např. biokysu (Klaban, 2011). Využívá se i při výrobě sušeného acidofilního mléka pro krmné účely (Görner, Valík, 2004).

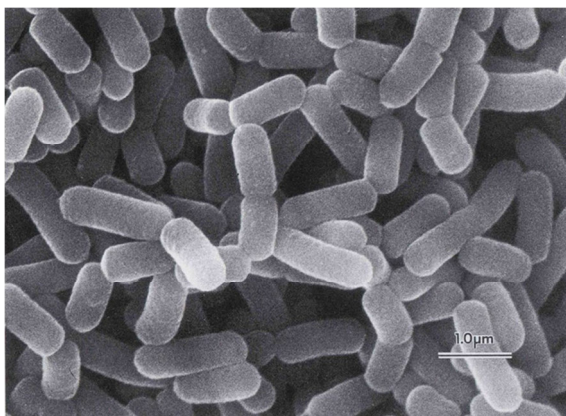
Metabolické aktivity *L. acidophilus* vedou k produkci chuťových a aromatických látek, které vytvářejí organoleptické vlastnosti fermentovaných potravin a inhibují nežádoucí mikroflóru (Ozogul, Hamed, 2011). *Lactobacillus acidophilus* je druh probiotický (Sanders, Klaenhammer, 2001). Jeho probiotické vlastnosti jsou dány rezistencí vůči žluči a schopností přilnout ke střevní stěně, čímž nahrazují bakterie patogenní a mají tak příznivý vliv na hostitele (Ozogul, Hamed, 2011). Díky tomu se v rámci dieteticko-léčebných účinků hodnotí jejich přítomnost v kysaných mléčných výrobcích velice kladně. Mimo mlékárenskou výrobu se tyto kmeny používají také ve zdravotnictví a veterinární medicíně (Klaban, 2011). Existuje mnoho dalších zdravotních výhod využití probiotických vlastností tohoto druhu, včetně léčby gastrointestinálních onemocnění (průjem, zácpa), schopnosti konkurovat patogenním bakteriím, snížení biosyntézy cholesterolu, inhibice střevních bakteriálních enzymů, které přeměňují prokarcinogeny na karcinogeny, aktivního a antifungálního působení (Ozogul, Hamed, 2011).



Obr. 4 *Lactobacillus acidophilus* (<http://lactobacillusacidophilus.tumblr.com>).

### 3.2.2 *Lactobacillus casei*

*Lactobacillus casei* subsp. *casei* má své druhové jméno odvozeno od slova kasein = mléčný protein. Jsou to grampozitivní nepohyblivé tyčinky, které se mohou seskupovat do řetízků. Po 3 až 5 dnech okyseluje mléko, koaguluje ho a způsobuje jeho hlenovitost. Stejně jako *Lactobacillus acidophilus* je mikroaerofilní, a jeho optimální teplota růstu je 30 °C (Klaban, 2011). *L. casei* byl poprvé izolován ze sýra Orla-Jensenem v roce 1916, který jej pojmenoval *Streptobacterium casei*. Od té doby byl tento druh nalezen v celé řadě různých prostředí, jako je rozkládající se rostlinný materiál, siláž, gastrointestinální trakt a dutina ústní člověka, kvásek, odpadní materiál či nejrůznější mléčné produkty (Horáčková et al., 2014).

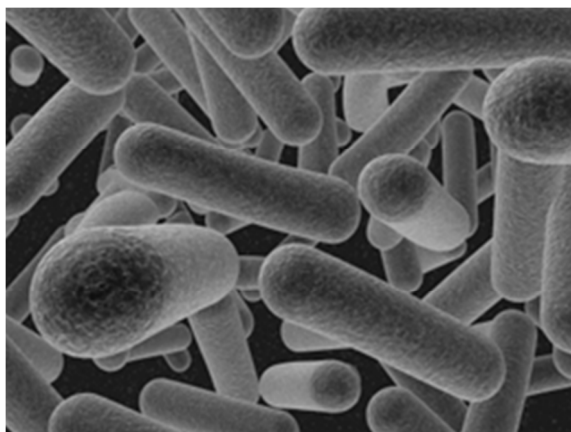


Obr. 5 *Lactobacillus casei* (<http://buffalobeerbiochemist.com>).

*L. casei* velmi intenzivně rozkládá proteiny, zvláště kasein, a to až na volné aminokyseliny (Klaban, 2011). Používá se jako doplňková kultura při zrání sýrů. Běžně se vyskytuje jako NSLAB (nonstarted lactic acid bacteria) u zralých sýrů, kde přispívá k rozvoji sýrové příchutě. Má také probiotický potenciál, a tudíž je zahrnut do funkčních potravin (Horáčková et al., 2014; Minervini, 2011).

### 3.2.3 *Lactobacillus helveticus*

Dříve byl tento druh nazýván jako *Lactobacterium helveticum* nebo *Thermobacterium helveticum*. Druhové jméno je odvozeno od latinského slova *Helvetia* = Švýcarsko, kde se poprvé začala tato kultura používat. Tvar buněk je opět tyčinkovitý a vyskytují se jednotlivě, ve dvojicích nebo v řetězcích. Velikost buněk je 4 – 8  $\mu\text{m}$  x 0,8  $\mu\text{m}$ . Optimální růstová teplota je 40 °C (Klaban, 2011). Popsal ho v roce 1919 Orla-Jensen jako izolát ze sýru Ementál. Tradičně se používá při výrobě švýcarských a italských plísňových sýrů (Slattery et al., 2010), sýrů ementálského typu s vysokodohříváním sýřeninou, nebo sýrů čedarového typu se sýřeninou mletou (Klaban, 2011). Dále se používá při výrobě fermentovaných nápojů jako je japonský Calpis a finský Evolus. Po požití těchto nápojů dochází ke snížení krevního tlaku, díky produkci vysoké hladiny bioaktivních tripeptidů (Slattery et al., 2010).



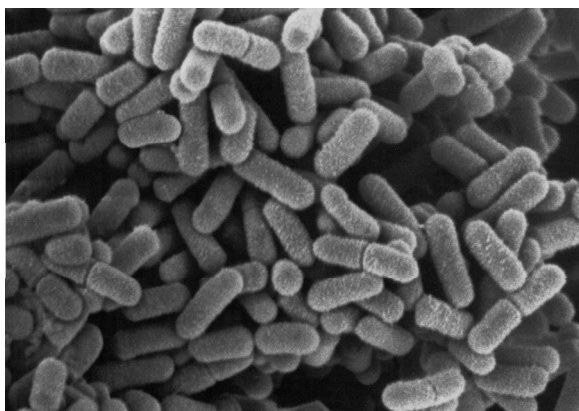
Obr. 6 *Lactobacillus helveticus* (<http://www.probiotic-cn.com>).

### 3.2.4 *Lactobacillus plantarum*

*Lactobacillus plantarum* dorůstá délky 4  $\mu\text{m}$  a šířky 0,6 – 1,0  $\mu\text{m}$  a má tyčinkovitý tvar. Vyskytuje se jednotlivě nebo v krátkých řetězcích s tendencí shlukování. Jedná se o homofermentativní mikroorganismus, protože produkuje téměř výhradně kyselinu mléčnou. Mimo ni produkuje necelé 3 % těkavých kyselin, převážně kyseliny octové. (Klaban, 2011).

*Lactobacillus plantarum* se hojně využívá v potravinářských technologiích (Sabo et al., 2014). Nachází se především v mléčných výrobcích. V přírodě se nachází zejména na rostlinách, od kterých se odvozuje jeho druhové jméno. Používá se jako sýrařská doplňková kultura při výrobě sýrů z ovčího mléka a sýrů s mletou sýřeninou. Dále se používá k očkování siláží, kde se také pravidelně vyskytuje. Dříve se používal také pro očkování řepných řízků v cukrovarnictví (Klaban, 2011).

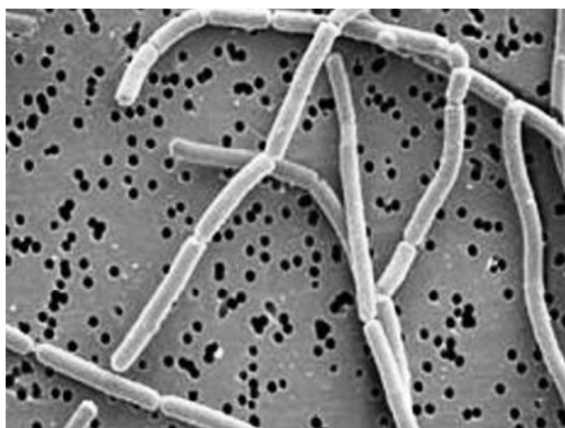
Některé druhy *Lactobacillus plantarum* mají probiotické vlastnosti, kvůli kterým byly použity pro vývoj funkčních potravin. Takové druhy by měly mít schopnost produkovat bakteriociny, které mají baktericidní nebo bakteriostatický účinek na patogenní bakterie jako je *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* a *Staphylococcus aureus*. Potravinářský průmysl v posledním letech projevuje vzrůstající zájem o používání bakteriocinů jako náhrady chemických konzervačních látek, protože nemění senzoric-kou kvalitu potravin (Sabo et al., 2014).



Obr. 7 *Lactobacillus plantarum* (<http://www.admani.com>).

### 3.2.5 *Lactobacillus delbrueckii*

*Lactobacillus delbrueckii* je typický a nejdéle známý druh rodu *Lactobacillus*. Nyní je zastoupen pěti poddruhy a to: *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. delbrueckii* subsp. *indicus*, *L. delbrueckii* subsp. *sunkii*. Těchto pět druhů mají minimálně 78% shodnost DNA. Laktobacily toho druhu jsou převážně obligátně homofermentativní. Některé druhy mohou být fakultativně heterofermentativní a jeden z druhů je obligátně heterofermentativní (Tsakalidou, Papadimitriou, 2014).



Obr. 8 *Lactobacillus delbrueckii* (<http://bioweb.uwlax.edu>).

#### 3.2.5.1 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

Dříve se nazýval *L. bulgaricus*, *Lactobacterium bulgaricum* nebo *Thermobacterium bulgaricum*, jelikož má optimální teplotu růstu 40 °C. Jeho tyčinkovité buňky dosahují délky až 12 μm a šířky až 1,5 μm a obvykle tvoří řetízky. Sráží mléko a to během 2 až 4 hodin. Je součástí směsných jogurtových kultur, které se používají pro výrobu jogurtů a dalších produktů. Rovněž je složkou doplňkových kultur ovlivňující průběh zrání sýrů a jejich specifické vlastnosti (Klaban, 2011).



### 3.2.5.2 *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*

Stejně jako *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* se *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* dříve nazýval *Lactobacterium delbrueckii* nebo *Thermobacterium cereale*. Buňky jsou tyčinkovitého tvaru a dorůstají délky 3 – 6 µm a šířky 1 µm. Často se řadí dvě za sebe, mohou se ale objevit i v dlouhých vláknech. Nejvhodnější teplota pro růst je v rozmezí 45 – 55 °C. Od této teploty se odvíjí bývalý název *Thermobacterium*, od řeckého *thermos* = teplý. Výskyt tohoto mikroorganismu je většinou na obilí (cereáliích), v mouce a moučných výrobcích apod. Je součástí mikroflóry keřirových a silážních kultur, kde uplatňuje svoji fermentační činnost (Klaban, 2011). *L. delbrueckii* subsp. *delbrueckii* se používá pro průmyslovou výrobu kyseliny mléčné z melasy (Görner, Valík, 2004).

## 3.3 Výskyt a význam rodu *Lactobacillus* v potravinářství

Rod *Lactobacillus* je v přírodě velmi rozšířen. Jeho druhy se nacházejí v mléce, kde vyvolávají přirozené kysání, v ústech a trávicím traktu savců, na travinách, obilovinách i jiných rostlinách a také v půdě (Šilhánková, 1995). Laktobacily rostou, rozmnožují se a metabolizují za anaerobních podmínek, ale i při sníženém obsahu kyslíku ve všech prostředích, které jim poskytují dostatek zkvasitelných sacharidů, štěpných produktů bílkovin, nukleových kyselin a vitaminů skupiny B (Görner, Valík, 2004).

### 3.3.1 Mléko a mléčné výrobky

Mléko je bezprostředně po nadojení prakticky sterilní. Velmi snadno se však mléko sekundárně kontaminuje, a to prachem, stykem s mlékárenským nářadím a zařízením (Hammes, Hertel, 2009). Mléčné streptokoky (*Lactococcus* spp.) rostou v mléku rychleji než laktobacily, tudíž je jich v čerstvém mléku více. Je-li kyselé mléko delší čas ponecháno za vhodných teplotních podmínek, přerůstají laktobacily laktokoky, protože jsou vůči kyselému prostředí tolerantnější (Görner, Valík, 2004).

Čerstvé mléko obsahuje zanedbatelné množství kyseliny mléčné. V průběhu fermentace dochází ke konverzi laktózy na kyselinu mléčnou zajištěnou bakteriemi mléčného kvašení. Kyselina mléčná prodlužuje trvanlivost mléka a dává kysaným mléčným výrobkům charakteristicky kyselou, osvěžující chuť (Hylmar, 1985).

### 3.3.1.1 Sýry

Při výrobě sýrů se používají homofermentativní laktobacily, mezi které patří např. *L. casei*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. helveticus*. Nověji se při výrobě sýrů používá i kultura *L. delbrueckii* spp. *bulgaricus*. Ve všech druzích a typech sýra, které zrají delší dobu než 14 dní, se rozmnožují různé mezofilní laktobacily jako je *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. casei* ad., jejichž původ je v mléku a na příslušném náradí a zařízení (Šilhánková, 1995). V nativní kyselé syrovátce se zpravidla rozmnoží nejkyselotvornější *L. helveticus*, který v ní vytvoří až 3 % kyseliny mléčné. Tento mikrob je také stálou složkou ementálského zákysu na výrobu tvrdých sýrů (Görner, Valík, 2004).

Při výrobě sýrů a tvarohů se vedle smetanové kultury (obsahující laktokoky a leukostoky), popř. kultury *Streptococcus lactis* (nyní *Lactococcus lactis*), které jsou základními kulturami pro všechny druhy sýrů, používá množství speciálních bakteriálních mlékařských kultur. Základní směsná ementálská kultura obsahuje většinou jen kmeny *L. helveticus* a *Streptococcus thermophilus*. Poměr mezi laktobacily a streptokoky má být 1:2. Někdy bývá kultura obohacena o *L. lactis* nebo *L. casei*. Kultura *L. casei* je monokultura využívaná při výrobě sýrů ementálského typu i při výrobě sýrů s nízkodohřívanou sýřeninou. Jednotlivé kmeny této kultury dodávají sýrům svou proteolytickou aktivitou žádoucí chuťové variace. Čedarová kultura obsahuje kmen *L. helveticus*, var. *pragensis*. Používá se při výrobě sýru čedar a bílých sýrů pařených (Teplý, 1980). Termofilní kultura je zastoupena kmeny *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* a *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (Görner, Valík, 2004). Používá se při výrobě průmyslového termofilního tvarohu a při výrobě kaseinu (Teplý, 1980).

### 3.3.1.2 Jogurt

Složkou mikrobiální kultury na výrobu jogurtu je vedle *Streptococcus salivarius* spp. *thermophilus* také velmi specifický, na mléko adaptovaný *L. delbrueckii* spp. *bulgaricus* (Görner, Valík, 2004). Nachází se v kultuře v zastoupení tyčinek ke kokům v poměru 1:1 až 1:2 (Zadrazil, 2002). Tyto bakterie jsou typickými představiteli jogurtové kultury, které žijí společně v částečně symbiotických vztazích (Teplý, 1980).

### 3.3.1.3 Kefír

*Lactobacillus kefir* je heterofermentativní složkou původně kavkazského kefiru. Tento druh kysaného mléka je jediným známým původním stanovištěm těchto laktobacilů (Görner, Valík, 2004). Mikroflóra směsné kefirové kultury je velmi rozmanitá. Základními druhy jsou *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus lactis* subsp. *caucasicus*, *L. acidophilus* a kvasinky *Torulopsis kefir* a *Saccharomyces fragilis*. V dalších kombinacích jsou doplňovány *L. casei*, *L. brevis*, *L. bulgaricus* a mnoha dalšími. V kefirové kultuře má být velká převaha streptokoků nad laktobacily a kvasinkami (Teplý, 1980). U kefirových nápojů se uplatňuje heterofermentativní i homofermentativní mléčné kvašení a kvašení ethanolové (Zadrazil, 2002).

### 3.3.2 Maso a masné produkty

Laktobacily jsou přirozenou součástí mikroflóry masa a masných výrobků a mají významný vliv na jejich jakost. Při výrobě fermentovaných masných výrobků se jako kulturní mikroflóra při řízené fermentaci využívají homofermentativní druhy laktobacilů (Steinhauser et al., 1995), patřící do skupiny *L. casei* a *L. plantarum* (Dušková et al., 2011). Spolu se streptokoky bývají laktobacily hlavní složkou divoké zrací mikroflóry (Steinhauser et al., 1995). Z fermentovaných salámů byly izolovány druhy *L. brevis*, *L. carnis*, *L. coryniformis*, *L. curvatus*, *L. farciminis*, *L. halotolerans*, *L. hilgardii*, *L. plantarum*, *L. sake*, *L. viridescens*, a *L. casei* subsp. *tolerans*. (Kameník, 1994). Z vakuově baleného syrového mletého masa byl izolován druh *L. divergens* (Görner, Valík, 2004).

Laktobacily mají významnou úlohu při nakládání a zrání masa v láku a při fermentaci masných výrobků (Görner, Valík, 2004). Jsou součástí tzv. startovacích kultur, což jsou vybrané a prověřené mikroorganismy, které jsou aplikovány do potravin v průběhu výrobního procesu za účelem vyvolání určitých požadovaných změn. V masném průmyslu se používají jako startovací kultury kmeny *L. sake* a *L. curvatus*. Význam laktobacilů při fermentaci tepelně neopracovaných salámů spočívá v tvorbě kyseliny mléčné, látek s antimikrobiální aktivitou a látek aromatických a chuťově aktivních (Kameník, 1994).

Maso neobsahuje významné množství zkvasitelných sacharidů, proto se přidávají do masové směsi spolu s kořením a solí (Hammes, Hertel, 2009). Tyto sacharidy mají zajistit tvorbu takového množství kyseliny mléčné, aby bylo optimální pro správný průběh zrání (Dušková et al., 2011). V průběhu fermentace klesá pH na 4,8 – 5,4 (Hammes,

Hertel, 2009). Nižší hodnota pH výrobku urychluje sušení fermentovaných tepelně nepracovaných masných výrobků, a tím i jejich výrobu. Nízké pH má také inhibiční vliv na nežádoucí mikroorganismy a urychluje reakci přeměny dusitanu na oxid dusnatý, kdy se mění barva finálních výrobků (Dušková et al., 2011).

Laktobacily produkují látky s antimikrobiálním účinkem, čímž se podílejí na konzervaci masa a masných výrobků. Mezi tyto látky řadíme např. peroxid vodíku, organické kyseliny nebo bakteriociny. Bakteriociny jsou sloučeniny bílkovinné povahy, které vykazují baktericidní aktivitu proti omezenému okruhu mikroorganismů. Nadměrné množství peroxidu vodíku je pro trvanlivé fermentované salámy nežádoucí a nejspíše souvisí s oxidativním žluknutím lipidů, stejně jako s vadami ve vybarvení těchto produktů (Dušková et al., 2011).

Laktobacily disponují komplexem proteolytických enzymů. Látky produkované při lipolýze a proteolýze (peptidy, aminokyseliny, karbonylové sloučeniny a těkavé látky) přispívají k vývinu charakteristického aroma i textury fermentovaných výrobků (Dušková et al., 2011).

### **3.3.3 Ryby a rybí výrobky**

Pro bakterie mléčného kvašení není vhodné mořské prostředí. I přesto obsahují ryby a kril (drobní mořští živočichové), lovené v arktických mořích, vůči chladu tolerantní laktobacily podobné *L. plantarum*.

Laktobacily hrají významnou úlohu při kažení syrových marinovaných sledů. Kyselina octová v marinádě tvoří kyselé prostředí potřebné pro funkci proteináz rybí svaloviny. Uvolněné aminokyseliny slouží jako zdroj energie pro laktobacily tolerantní vůči kyselině octové a zvýšené koncentraci soli, které potom dekarboxylují uvolněné aminokyseliny za vzniku biogenních aminů, jako je histamin a další biogenní aminy. Prvním příznakem kažení marinovaných ryb je tvorba CO<sub>2</sub> (Görner, Valík, 2004). Laktobacily izolované z marinovaných sledů jsou *L. plantarum*, *L. brevis* a *L. buchneri* (Hammes, Hertel, 2009). Přirozeně se v rybím mase vyskytuje také *L. sake* (Barrangou et al., 2012).

### **3.3.4 Rostlinné materiály**

Na povrchu neporušených rostlin se laktobacily vyskytují v přírodě jen v malém počtu. Spolu s ostatními bakteriemi mléčného kvašení se však hojně vyskytují na rozkládajících se rostlinných materiálech, především na kazícím se ovoci (Hammes, Hertel, 2009).

Laktobacily mají velký význam při výrobě mnohých fermentovaných produktů rostlinného původu (např. siláž, kysané zelí, nakládaná zelenina, olivy, ovocné šťávy, pivo, víno a jiné), stejně jako při kažení potravin a krmiv. V této souvislosti byli nejčastěji identifikované druhy: *L. sake*, *L. curvatus*, *L. plantarum* a *L. brevis* (Hammes, Hertel, 2009). *L. plantarum* a *L. buchneri* se využívají na výrobu siláží a fermentovaných krmiv pro hospodářská zvířata (Barrangou et al., 2012). Homofermentativní *L. plantarum* se u nás často vyskytuje na rostlinách a uplatňuje se při konzervaci zelí, okurek a píce mléčným kvašením. Spolu s heterofermentativními druhy *L. brevis* a *L. fermentum* se vyskytuje v pekařském kvásku (Šilhánková, 1995). *L. fructivornas* je typickým laktobacilem okyselujícím alkoholické nápoje. *L. yamanashiensis* (*L. mali*) byl izolovaný z jablečných moštů a jiných ovocných šťáv (Görner, Valík, 2004).

### 3.4 Výskyt a význam rodu *Lactobacillus* u lidí a zvířat

U lidí a teplokrevných zvířat sídlí laktobacily v dutině ústní, střevech a vagíně (Hammes, Hertel, 2009). Běžně osídlují gastrointestinální trakt ptáků a savců (Sedláček, 2007). Nacházejí se i v bachoru přežvýkavců (Görner, Valík, 2004). *Lactobacillus acidophilus* neboli Döderleinův laktobacil se nachází ve fertilním věku žen ve vagíně (Horáček a kol., 2000).

#### 3.4.1 Gastrointestinální trakt

Anatomické rozdíly lidských a zvířecích střev ovlivňují počet a zastoupení mikroorganismů, zvláště laktobacilů. V lidském žaludku je počet laktobacilů nízký a jsou zde zastoupeny pouze druhy, které jsou dobře přizpůsobené kyselému prostředí (pH 2,2 – 4,2). Z biopsií zdravých jedinců byly izolovány dva obligátně heterofermentativní druhy (*L. gastricus*, *L. antri*) a dva obligátně homofermentativní druhy (*L. kalixensis* a *L. ultunensis*). Laktobacily se nacházejí i ve výkalech. V lidských výkalech se nacházejí v rozmezí od 0 do  $<10^9$  KTJ / g. U zvířat, např. prasat, psů, slepic, myší, krys a křečků jsou zastoupeny ve větší míře (Hammes, Hertel, 2009). Nejvýznamnějším druhem v intestinálním traktu lidí a zvířat je *L. acidophilus*. Připisuje se mu blahodárný účinek na zdraví lidí a zvířat. V bachoru přežvýkavců se nachází především *L. ruminis* a *L. vitulinus*. *L. ruminis* byl izolován i z lidských střev (Görner, Valík, 2004). Ekologické studie ukazují, že většina druhů laktobacilů v gastrointestinálním traktu pravděpodobně pochází z ústní dutiny nebo z potravin (Hammes, Hertel, 2009).

Ve střevě plní laktobacily významnou antagonistickou funkci proti hnilobným bakteriím. Potraviny, které obsahují laktobacily, například *L. helveticus*, *L. bulgaricus*, jsou doporučovány ke konzumaci po předchozím užívání širokospektrálních antibiotik, kdy se často vyskytují dyspeptické potíže (Horáček a kol., 2000).

#### **3.4.1.1 Probiotika a prebiotika**

Probiotika jsou definovány jako živé mikroorganismy přidávané do potravin, které příznivě ovlivňují zdraví jejich konzumenta zlepšením rovnováhy jeho střevní mikroflóry (Kalač, 2003). Probiotické potraviny jsou potravinářské produkty, které obsahují živé probiotické složky v takové koncentraci, kdy po požití vyvolají předpokládaný účinek (Snel, Meer, 2003). V potravinářských výrobcích s probiotickým účinkem se za účinný obsah považuje alespoň  $10^6$  KTJ / g (Kalač, 2003; Tamime et al., 2005).

Nejběžněji používané druhy bakterií rodu *Lactobacillus* v probiotických mléčných výrobcích jsou: *L. acidophilus*, *L. amylovorus*, *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. casei* / *paracasei*, *L. plantarum*, *L. reureti* a *L. rhamnosus* (Snel, Meer, 2003).

V tlustém střevě se průchod tráveniny ve srovnání s žaludkem a tenkým střevem podstatně snižuje. Přítomné bakterie zde mají možnost štěpit složky potravy, které prošly tenkým střevem nestrávené. Tyto složky jsou pro bakterie zdrojem energie a živin. (Kalač, 2003).

Probiotika se do mléka mohou přidávat před jeho fermentací. Další variantou je fermentace části mléka s probiotickým kmenem a následné smíchání s druhou, nefermentovanou částí mléka. Poslední alternativou je přidání probiotického kmene do již fermentovaného výrobku. Mezi probiotické mléčné výrobky patří některé jogurty, kysané mléčné nápoje a ostatní fermentované mléčné výrobky. Mezi ty méně běžné patří čerstvé a zrající sýry (Snel, Meer, 2003).

Hlavním zdravotním přínosem probiotik je ustavení a obnovení vyvážené mikroflóry střeva (Kalač, 2003). Probiotika úspěšně vyvažují střevní mikroflóru po narušení např. antibiotiky. Některá probiotika také zabraňují průjmu rotavirového původu. Tyto účinky byly dokumentovány u kmenů *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. johnsonii* a *L. casei* (Walstra et al., 2006). Dále zmírňují intoleranci laktózy a zlepšují vstřebatelnost vápníku. Umí syntetizovat některé vitaminy a produkují bakteriociny. Zároveň slouží jako prevence cévních onemocnění snížením hladiny krevního celkového LDL cholesterolu (Kalač, 2003). Dalším účinkem požitých bakterií mléčného kvašení je stimulace imunitního systému. Některá probiotika mají nejspíše protikarcinogenní

vlastnosti. Většina studií zkoumající protinádorové a protikarcinogenní účinky byla provedena na zvířecích modelech (Walstra et al., 2006).

Pro zvýšení schopnosti probiotik přežít průchod žaludkem a tenkým střevem a dlouhodobě se usídlit ve střevě tlustém v konkurenci jeho přirozené mikroflóry jsou důležitá prebiotika. Ty jsou charakterizovány jako nestravitelné složky potravin selektivně podporující růst nebo aktivitu jedné nebo omezeného počtu bakterií tlustého střeva, které mohou zlepšit zdravotní stav konzumenta. Funkci některých prebiotik plní např. oligosacharidy, které se musí do tlustého střeva dostat nerozštěpené. Mají příznivý vliv na složení mikroflóry tlustého střeva, snižují energetický příjem a zvětšují objem stolice, díky čemuž klesá výskyt zácpy (Kalač, 2003).

### 3.4.2 Vagina žen

Počet vaginálních laktobacilů kolísá dle druhu a kmene (Hammes, Hertel, 2009). Přítomnost *L. acidophilus* ve vagině žen je velmi významná především v ochraně poševní sliznice. Existence těchto laktobacilů je podmíněna dostatečnou hladinou estrogenů, které zajišťují sekreci glykogenu. Ten laktobacily štěpí na kyselinu mléčnou, která udržuje v pochvě fyziologické nízké pH. (Horáček a kol., 2000). Toto nízké pH vagíny je důležité pro ochranu poševní sliznice před invazí jiných, nepříznivých mikroorganismů (Klaban, 2011). Některé laktobacily také produkují H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, který je inhibítorem pro další bakterie. Při nízké hladině estrogenů se zvyšuje riziko bakteriálního nebo mykotického zánětu pochvy. K zabránění množení patogenních mikroorganismů a jejich kolonizaci mohou být laktobacily podávány vaginálně, přičemž dochází k normalizaci poševní acidity (Horáček a kol., 2000). Z vaginálního sekretu byl izolován *Lactobacillus jensenii*, který patří spolu s *L. gasseri* a *L. crispatus* k nejčastěji detekovaným laktobacilům ve vagině. Z moči a vaginálního sekretu dospělých žen byl izolován *L. iners*, z vagíny mladých žen byl izolován *L. coleohominis* (Hammes, Hertel, 2009).

### 3.4.3 Ústní mikroflóra

Laktobacily se vyskytují jak na sliznici v dutině ústní (včetně slin), tak v zubním plaku, kde se mohou podílet na vzniku zubního kazu (Horáček a kol., 2000; Barrangou et al., 2012). Ve slinách převládají druhy homofermentativní, zvláště *L. paracasei* a *L. rhamnosus* (Hammes, Hertel, 2009). V dutině ústní je pravděpodobně nejtypičtějším druhem *L. salivarius* (Görner, Valík, 2004).

### 3.5 Negativní působení rodu *Lactobacillus*

Přes značný pozitivní vliv a široké uplatnění laktobacilů, mohou rovněž zapříčinit nevídané změny v potravinách a nápojích. Mezi nejčastější řadíme tvorbu kyselých a jiných chutí, tvorbu slizu, plynu a zezelenání především masných produktů (Görner, Valík, 2004).

Několik druhů laktobacilů může přispět ke znehodnocování mléčných výrobků produkcí slizů a plynů. Z hygienického hlediska je také negativní tvorba biogenních aminů produkovanými kmeny *L. buchneri* (Hammes, Hertel, 2009). Při kažení mléčných výrobků má specifický účinek *L. maltaromicus*, který způsobuje sladovou pachut' mléka tvorbou různých aldehydů a alkanů a *L. bifementans*, který způsobuje nadouvání sýrů holandského typu díky tvorbě CO<sub>2</sub> a H<sub>2</sub> z mléčnanu (Görner, Valík, 2004).

Laktobacily se mohou podílet také na kažení masa a masných produktů, tvorbě biogenních aminů, nebo mohou být zdrojem genů rezistence k antibiotikům (Dušková et al., 2011). Při výrobě uzenin způsobuje kontaminace heterofermentativními mléčnými bakteriemi (hlavně *L. viridescens*) zelenání prátů a hotových výrobků. Příčinou zelenání je peroxid vodíku a jiné peroxidy, které tyto bakterie tvoří při kvašení; peroxidy reagují s růžovými pigmenty uzeného masa za vzniku zeleného zbarvení (Šilhánková, 1995).

Některé heterofermentativní laktobacily se vyskytují také jako nežádoucí kontaminace ve vinařství a pivovarství, kde způsobují chuťové vady výrobku. Při kažení piva se často izoluje *L. lindneri* a *L. brevis* Görner, Valík, 2004). *L. kunkeei* a *L. nageli* zpomalují alkoholové kvašení hroznového moštu, což je známý problém při výrobě vína. Přítomnost laktobacilů ve víně je nežádoucí, protože mohou způsobovat změny chuti a tvořit zákaly. *L. fructivorans* a *L. hilgardii* mohou vína dokonce zkazit (Hammes, Hertel, 2009). V droždářství vedou laktobacily ke ztrátám výtěžnosti (Šilhánková, 1995).



## 4 MATERIÁL A METODIKA

Předmětem praktické části bakalářské práce bylo stanovit počet bakterií rodu *Lactobacillus* v syrovém kozím, syrovém kravském a acidofilním mléce. Mikrobiologický rozbor byl proveden technikou zalévání inokula živnou půdou. Inkubace probíhala jak při aerobních, tak i anaerobních podmínkách. Každý vzorek byl pro lepší vyhodnocení připraven dvakrát, stejně jako se opakovalo dvakrát celé stanovení.

### 4.1 Charakteristika vzorků

Pro mikrobiologickou analýzu byly použity vzorky syrového kozího a kravského mléka a dále mléko acidofilní.

#### Vzorek č. 1: kozí mléko

Kozí mléko bylo zakoupeno v den stanovení na domácí kozí farmě – KOZÍ ZAHRADA v Brně - Komíně.

#### Vzorek č. 2: kravské mléko

Kravské mléko bylo zakoupeno den před stanovením od soukromého chovatele v Černvíru.

#### Vzorek č. 3: acidofilní mléko

Acidofilní mléko bylo zakoupeno v obchodním řetězci den před stanovením. Acidofilní mléko se pro stanovení ředilo desetinným ředěním na požadované zředění  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  a  $10^{-6}$ .

Informace uvedené na obalu:

- Obsah tuku: 3,6 %.
- Objem: 500 ml.
- Složení: mléko, mlékařské kultury.
- Skladujte při teplotě +2 °C do +8 °C.
- Před otevřením protřepat, po otevření určeno k rychlé spotřebě.

- Výživové údaje na 100 ml:
  - o Energie: 256 kJ / 61 kcal
  - o Tuky: 3,6 g
  - o z toho nasycené mastné kyseliny: 2,0 g
  - o Sacharidy: 3,9 g
  - o z toho cukry: 3,9 g
  - o Bílkoviny: 3,3 g
  - o Sůl: 0,10 g

## 4.2 Příprava laboratorních pomůcek

Laboratorní sklo bylo před mikrobiologickou analýzou sterilizováno v horkovzdušném sterilizátoru při teplotě 165 °C po dobu 60 minut. Skleněné lahve s živnými půdami, stejně jako zkumavky s fyziologickým roztokem, byly sterilizovány v parním sterilizátoru při teplotě 121 °C po dobu 20 minut. Byly použity automatické pipety se sterilními jednorázovými špičkami. Dále byly použity sterilní jednorázové plastové Petriho misky.

## 4.3 Složení a příprava živného média

Pro stanovení rodu *Lactobacillus* se používá MRS Agar.

### Složení MRS agaru:

- Polypepton	10,0 g
- Masový extrakt	10,0 g
- Kvasničný extrakt	5,0 g
- Glukóza	20,0 g
- Tween 80	1,0 g
- Hydrogenfosforečnany draselný	2,0 g
- Octan sodný	5,0 g
- Citran amonný	2,0 g
- Síran hořečnatý	0,2 g
- Síran manganatý	0,05 g
- Agar	15,0 g

### **Příprava:**

Navážka 70,3 g půdy se smíchá s 1 l destilované vody, ponechá se stát několik minut a zahřívá se k varu za častého promíchávání až do úplného rozpuštění agaru. Změří se pH a popř. se upraví na hodnotu  $5,7 \pm 0,1$  při 25 °C. Sterilizace probíhá v autoklávu při 121 °C po dobu 15 minut.

Výrobce: Biokar Diagnostics, France.

### **4.4 Postup mikrobiologické analýzy**

Mléko bylo před začátkem analýzy protřepáno. Následně bylo za sterilních podmínek odebráno mléko ze vzorkovnice nebo z originálního obalu. 1 ml mléka nebo jeho příslušného desítkového ředění byl inokulován do sterilních plastových Petriho misek. Od každého vzorku byly připraveny vždy dvě Petriho misky.

Inokulum v každé misce bylo zalito rozehrátým a na 45 °C zchlazeným živným médiem. Bezprostředně po zalití se rozehrátá půda s inokulem krouživými pohyby důkladně promíchala. Po úplném ztuhnutí půdy byly misky se vzorky pro anaerobní stanovení vloženy dnem vzhůru do anaerocultu, misky pro aerobní stanovení byly ponechány volně a vloženy do inkubátoru. Kultivace probíhala po dobu 48 h při teplotě 36°C.

### **4.5 Způsob vyjádření výsledků**

Po ukončení kultivace byly na miskách odečteny typické narostlé kolonie. Po přepočtení byly uvedeny jako kolonie tvořící jednotky v 1 ml vzorku (KTJ / ml).

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0,1 \cdot n_2) \cdot d}$$

$\sum C$  ... součet kolonií spočítaných na Petriho miskách

$n_1$  ... počet Petriho misek použitých z prvního ředění

$n_2$  ... počet Petriho misek použitých z druhého ředění

$d$  ... faktor prvního pro výpočet použitého ředění

## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Ve vzorcích syrového kozího a kravského mléka a v acidofilním mléce byl stanoven počet laktobacilů. Zjištěné výsledky jsou uvedeny v tabulkách 4 až 6.

*Tab. 4 Počet laktobacilů v KTJ v 1 ml vzorku č. 1 (kozí mléko).*

	Aerobně	Anaerobně
I. stanovení	1	17
II. stanovení	6	36
<b>Průměr</b>	<b>4</b>	<b>27</b>

*Tab. 5 Počet laktobacilů v KTJ v 1 ml vzorku č. 2 (kravské mléko).*

	Aerobně	Anaerobně
I. stanovení	559	127
II. stanovení	20	69
<b>Průměr</b>	<b>290</b>	<b>98</b>

*Tab. 6 Počet laktobacilů v KTJ v 1 ml vzorku č. 3 (acidofilní mléko).*

	Aerobně (KTJ)	Anaerobně
I. stanovení	ND in $10^{-4}$	445 455
II. stanovení	ND in $10^{-4}$	250 000
<b>Průměr</b>	<b>ND in <math>10^{-4}</math></b>	<b>347 728</b>

Z výsledků je zřejmé, že anaerobní kultivace je vzhledem ke kultivačním nárokům laktobacilů pro stanovení jejich počtu výhodnější. Nejvíce laktobacilů bylo zjištěno u acidofilního mléka při anaerobní kultivaci, a to  $4 \times 10^5$  KTJ / ml. Ve stejném mléce při aerobní kultivaci nebyly žádné laktobacily v ředění  $10^4$  detekovány. Druhý největší počet byl zaznamenán u kravského mléka, zejména při prvním stanovení v prostředí aerobním, kde bylo zjištěno 559 KTJ / ml. Ve stejném mléce v prostředí anaerobním bylo stanoveno 98 KTJ / ml. Nejméně laktobacilů obsahovalo mléko kozí. Větší množství bylo stanoveno v anaerobních podmínkách – 27 KTJ / ml, menší množství v podmínkách aerobních – 4 KTJ / ml.

V syrovém mléce se před dojením vyskytuje jen malé množství primární mikroflóry, která bývá během dojení potlačena mikroflórou sekundární. Syrové mléko je vhodným médiem pro růst bakterií mléčného kvašení, mezi které řadíme i rod *Lactobacillus* (Petříková, 2012). V syrovém mléce se bakterie mléčného kvašení vyskytují v množství menším než  $10^4$  KTJ / ml. Laktobacily se do mléka dostávají primárně z trav na pastvě a sekundárně z povrchu těla zvířete, z povrchu struků a okolního prostředí (Petříková, 2012; Kalhtoka et al., 2010).

Dle Petříkové patří rod *Lactobacillus* mezi nejčastější rody v kozím mléce. Mezi laktobacily nalezené v syrovém kozím mléce patří: *Lactobacillus curvatus* (25,25 %), *Lactobacillus helveticus* (10,98 %), *Lactobacillus plantarum* (9,89 %), *Lactobacillus reuteri* (9,89 %), *Lactobacillus casei* (7,69 %), *Lactobacillus brevis* (5,49 %), *Lactobacillus bulgaricus* (5,49 %), *Lactobacillus paracasei* (4,39 %) a *Lactobacillus acidophilus* (2,19 %). V kravském mléce se rod *Lactobacillus* objevuje v mnohem menším množství (Petříková, 2012). Výsledky této práce jsou s tímto tvrzením v rozporu, jelikož větší množství laktobacilů bylo v této práci stanoveno v mléce kravském.

V acidofilním mléce, jakožto probiotickém produktu, má být počet probiotik k datu trvanlivosti, anebo při dřívější spotřebě v koncentraci více jak  $10^6$  KTJ / ml (Vystavělová, 2010). V 1 ml vzorku bylo stanoveno  $4 \times 10^5$  KTJ / ml z rodu *Lactobacillus*. Zastoupení jednotlivých rodů probiotických bakterií ve výrobku (acidofilním mléce) nebylo na obalu uvedeno. Mezi probiotika řadíme mimo rod *Lactobacillus* i jiné rody, jako je např. *Bifidobacterium* a další (Vystavělová, 2010). Proto nelze tvrdit, že by ve vzorku bylo probiotik málo.

Dle Klabana laktobacily lépe rostou při anaerobním prostředí, což potvrdily vzorky kozího a acidofilního mléka, kde bylo stanoveno větší množství laktobacilů právě v prostředí anaerobním. U kravského mléka byl zaznamenán větší růst v prostředí

aerobním (Klaban, 2011). Vzhledem k nemalému rozdílu mezi prvním a druhým stanovením a k většímu počtu stanovených laktobacilů při aerobních podmínkách u kravského mléka, je možný nárůst i jiných bakterií mléčného kvašení.

Rozdíly ve výsledcích mezi prvním a druhým stanovením jsou přirozené, protože mikrobiální osídlení mléka se velmi liší jak mezi stády, jednotlivými zvířaty, jednotlivými struky (Petříková, 2012), tak podle počasí, pastvy, laktace, ustájení, zdravotního stavu, způsobu a délce skladování mléka apod. (Kalhotka et al. 2010; Petříková, 2012).

## 6 ZÁVĚR

Rod *Lactobacillus* je pro člověka velmi významný. Velmi hojně je využíván v potravinářství, zejména pro výrobu mléčných a masných výrobků, a pro konzervaci potravin. Důležitou roli hraje také pro lidský organismus, kde především v gastrointestinálním traktu působí velmi příznivě. Na druhé straně nelze opomenout jeho negativní působení, kdy se může podílet na kažení a znehodnocování potravin a nápojů. Z hlediska hygienického je negativní tvorba biogenních aminů.

V praktické části této práce bylo zjištěno, že jednoznačně nejvíce laktobacilů obsahuje acidofilní mléko, jehož vzorek byl kultivován v anaerobním prostředí. V prostředí aerobním nebyly u tohoto mléka laktobacily detekovány v ředění  $10^{-4}$ . Ve srovnání koziho a kravského mléka byl vyšší obsah laktobacilů KTJ / ml v mléce kravském ve větším množství při aerobních podmínkách. Kozí mléko obsahovalo laktobacilů nejméně a lépe rostly v prostředí anaerobním.

## 7 PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY

BARRANGOU R., LAHTINEN S. J., IBRAHIM F., OUWEHAND A. C., 2012: Genus *Lactobacillus*, s. 77-86. In: LAHTINEN S., OUWEHAND A. C., SALMINEN S., WRIGHT A. (eds): *Lactid acid bacteria: microbiological and functional aspects*. 4th ed. Florida: CRC Press, ISBN 978-1-4398-3677-4.

BURSOVÁ Š., NECIDOVÁ L., DUŠKOVÁ M., 2014: *Mikrobiologie potravin a mikrobiologické laboratorní metody. Obecná mikrobiologie*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno ISBN978-80-7305-741-1.

DELLAGLIO F., FELIS G. R., 2005: Taxonomy of Lactobacilli and Bifidobacteria, s. 25-49. In: TANNOCK G. W. (eds): *Probiotics & Prebiotics: Scientific Aspects*. Great Britain: Caister Academic Press. ISBN 1-904455-01-8

DUŠKOVÁ M., KAMENÍK J., KARPÍŠKOVÁ R., 2011: Význam laktobacilů v masných výrobcích. *Maso*, vol. 4/11, p. 12–16.

GÖRNER F., VALÍK L., 2004: *Aplikovaná mikrobiológia požívatin: princípy mikrobiológie požívatin, potravinársky významné mikroorganizmy a ich skupiny, mikrobiológia potravinárskych výrob, ochorenia mikrobiálneho pôvodu, ktorých zárodky sú prenášané požívatinami*. Bratislava: Malé centrum, ISBN 809670649.

HAMMES W. P., HERTEL CH., 2009: Genus I. *Lactobacillus*, s. 465-511. In: VOS P. D., GARRITY G. M., JONES D., KRIEG N. R., et al. (eds): *Bergey's manual of systematic bacteriology: The Firmicutes*. 2nd ed. New York: Springer, ISBN 978-0-387-95041-9.

HORÁČEK J., 2000: *Základy lékařské mikrobiologie*. Praha: Karolinum, ISBN 8024600064.



HORÁČKOVÁ Š., MÜHLHANSOVÁ A., HOUŠKOVÁ K., PLOCKOVÁ M., 2014: *Lactobacillus casei* a jeho selektivní stanovení ve směsích s ostatními bakteriemi mléčného kvašení. In: *Mlékařské listy* [online], MILCOM a.s., [vid. 2016\_13\_04]. Dostupné z: [http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2014/147\\_ix-xii.pdf](http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2014/147_ix-xii.pdf).

HYLMAR B., 1985: *Zvyšování nutričních a dietetických vlastností mléka baktériemi mléčného kvašení*. Praha: Výzkumný ústav mlékárenský.

KALAC P., 2003: *Funkční potraviny: kroky ke zdraví*. České Budějovice: DONA, ISBN 80-7322-029-6.

KALHOTKA L., ŠUSTOVÁ K., KVASNIČKOVÁ B., LUŽOVÁ T., HAVLÍKOVÁ Š., 2010: Změny mikroflóry kozího mléka v průběhu laktace. In: *Mlékařské listy* [online], MILCOM a.s., [vid. 2016\_04\_04]. Dostupné z: [http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2010/119\\_s.\\_14-17.pdf](http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2010/119_s._14-17.pdf).

KAMENÍK J., 1994: *Startovací kultury v masném průmyslu*. Praha: ÚZPI, ISBN 80-85120-46-1.

KLABAN V., 2011: *Ekologie mikroorganismů: ilustrovaný lexikon biologie, ekologie a patogenity mikroorganismů*. Praha: Galén, ISBN 9788072627707.

MINERVINI F., 2011: Lactic Acid Bacteria: *Lactobacillus* spp.: *Lactobacillus casei* Group. In: FUQUAY J. W., FOX P. F., McSWEENEY P. L. H. (eds): *Encyclopedia of Dairy Sciences*. 2<sup>nd</sup> ed. Mississippi.: Elsevier.

NĚMEC M., MATOULKOVÁ D., 2015: *Základy obecné mikrobiologie*. Brno: muni PRESS, ISBN 978-80-210-7923-6.

OZOGUL F., HAMED I., 2011: Lactic Acid Bacteria: *Lactobacillus* spp.: *Lactobacillus acidophilus*. In: FUQUAY J. W., FOX P. F., McSWEENEY P. L. H. (eds): *Encyclopedia of Dairy Sciences*. 2<sup>nd</sup> ed. Mississippi.: Elsevier.

PETŘÍKOVÁ A., 2012: *Mikrobiální společenstva mléka*. Brno. Bakalářská práce (ne-publ.). Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie. Vedoucí práce RNDr. Kateřina Kšicová.

SABO S. D. S., VITOLO M., GONZÁLEZ J. M. D., OLIVEIRA R. P. D. S., 2014: Overview of *Lactobacillus plantarum* as a promising bacteriocin producer among lactic acid bacteria, s. 527-536. In: SANT'ANNA, A. (ed.): *Food Research International*. U.S.A.: Elsevier.

SANDERS M. E., KLAENHAMMER T. R., 2001: Invited Review: The Scientific Basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM Functionality as a Probiotic, s. 319-331. In: LUCY M. C. (ed.): *Journal of Dairy Science*. Raleigh: Elsevier.

SEDLÁČEK I., 2007: *Taxonomie prokaryot*. Brno: Masarykova univerzita, ISBN 8021042079.

SCHLEIFER K. H., LUDWIG W., 1994: Molecular taxonomy: classification and identification. In: PRIEST F. G., RAMOS-CORMENZANA A., TINDALL B. J. (eds): *Bacterial Diversity and Systematics*. New York: Plenum Press.

SLATTERY L., O'CALLAGHAN J., FITZGELARD G. F., BERESFORD T., ROSS R. P., 2010: Invited Review: *Lactobacillus helveticus* – A thermophilic dairy starter related to gut bacteria. In: LUCY M. S. (ed.): *Journal of Dairy Science*. Raleigh: Elsevier.

SNEL J., MEER R. V. D., 2003: Developing and approving health claims for functional dairy products, s. 246-260. In: SMIT G. (ed.): *Dairy processing: Improving quality*. Cambridge: Woodhead Publishing, ISBN 0-8493-1758-4.

STEINHAUSER L. a kol., 1995: *Hygiena a technologie masa*. Brno: LAST, ISBN 80-900260-4-4.

ŠILHÁNKOVÁ L., 1995: *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnologii*. Praha: Victoria, ISBN 80-85605-71-6.

TAMIME A. Y., SAARELA M., SONDERGAARD A. K., MISTRY V. V., SHAH N. P., 2005: Production and Maintenance of Viability of Probiotic Microorganisms in Dairy Products, s. 39-72. In: TAMIME A., Y (ed.): *Probiotic Dairy Products*. Oxford, UK: Blackwell Pub., ISBN 978-1-4051-2124-8.

TEPLÝ M., 1980: *Nové směry v technice a technologii mlékárenského průmyslu*. Praha: SNTL.

TSAKALIDOU E., PAPADIMITRIOU K., 2014: The current phylogenetic structure of the genus *Lactobacillus*, s. 286-293. In: HOLZAPFEL W. H., WOOD B. J. B. (eds): *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy*. Chichester: John Wiley & Sons. ISBN 978-1-4443-3383-1.

VYSTAVĚLOVÁ R., 2010: *Identifikace probiotických druhů rodu Lactobacillus*. Brno. Bakalářská práce (nepubl.). Vysoké učení technické v Brně, Chemická fakulta, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce doc. Ing. Bohuslav Rittich, CSc.

WALSTRA P., WOUTERS T., M., GEURTS T., J., 2006: *Dairy Science and Technology*. 2<sup>nd</sup> ed. Boca raton: CRC/Taylor & Francis, ISBN 978-0-8247-2763-5.

ZADRAŽIL K., 2002: *Mlékařství*. Praha: TIRA, s.r.o., ISBN 80-86642-15-1.

## 8 SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1 Schéma glykolýzy (upraveno dle Bursová et al., 2014).</i> .....	13
<i>Obr. 2 Schéma homofermentativního mléčného kvašení glukózy (upraveno dle Němec, Matoulková, 2015).</i> .....	14
<i>Obr. 3 Schéma heterofermentativního mléčného kvašení glukózy (upraveno dle Němec, Matoulková, 2015).</i> .....	15
<i>Obr. 4 Lactobacillus acidophilus (<a href="http://lactobacillusacidophilus.tumblr.com">http://lactobacillusacidophilus.tumblr.com</a>).</i> .....	20
<i>Obr. 5 Lactobacillus casei (<a href="http://buffalobeerbiochemist.com">http://buffalobeerbiochemist.com</a>).</i> .....	20
<i>Obr. 6 Lactobacillus helveticus (<a href="http://www.probiotic-cn.com">http://www.probiotic-cn.com</a>).</i> .....	21
<i>Obr. 7 Lactobacillus plantarum (<a href="http://www.admani.com">http://www.admani.com</a>).</i> .....	22
<i>Obr. 8 Lactobacillus delbrueckii (<a href="http://bioweb.uwlax.edu">http://bioweb.uwlax.edu</a>).</i> .....	23

## 9 SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1 Obligátně homofermentativní laktobacily</i> (upraveno dle Görner, Valík, 2004).....	16
<i>Tab. 2 Fakultativně heterofermentativní laktobacily</i> (upraveno dle Görner, Valík, 2004).....	17
<i>Tab. 3 Obligátně heterofermentativní laktobacily</i> (upraveno dle Görner, Valík, 2004).....	18
<i>Tab. 4 Počet laktobacilů v KTJ v 1 ml vzorku č. 1 (kozí mléko).</i> .....	35
<i>Tab. 5 Počet laktobacilů v KTJ v 1 ml vzorku č. 2 (kravské mléko).</i> .....	35
<i>Tab. 6 Počet laktobacilů v KTJ v 1 ml vzorku č. 3 (acidofilní mléko).</i> .....	35