

Adherence bakterií mléčného kvašení na vlákninu

Bc. Karolína Večeřová

Diplomová práce
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav biochemie a analýzy potravin

akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Karolína VEČEŘOVÁ**
Osobní číslo: **T080350**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Adherence bakterií mléčného kvašení na vlákninu**

Zásady pro vypracování:

Charakterizovat pojmy prebiotikum, probiotikum, symbiotikum

Charakterizovat základní probiotické bakterie

Popsat mechanismus působení probiotik na organismus

Popsat účinky vlákniny na trávení a organismus

Popsat adhezenční vlastnosti mikroorganismů a metody jejich studia

Ověřit adhezenci *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* a *Lactobacillus acidophilus* na 10 druhů vysoce extrahované vlákniny

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

Seppo Salminen, Atte von Wright (2004) Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, 4th Edition, CRC Press, ISBN 9780824753320.

Görner F., Valík L' (2004) Aplikovaná mikrobiológia potravín, 1. vyd. Bratislava: Malé Centrum, 528 s. ISBN 80-967064-9-7.

Kvasničková, Alexandra (2000) Sacharidy pro funkční potraviny: probiotika-prebiotika-symbiotika. 1.vyd. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 81s. ISBN 80-7271-001-X.

Rolf Bos, Henny C. van der Mei, Henk J. Busscher (1999) Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions ' its mechanisms and methods for study, FEMS Microbiology Reviews 23, 179-230.

Susan Sangsoo Cho, E. Terry Finocchiaro (2009) Handbook of Prebiotics and Probiotics Ingredients: Health benefits and food applications, CRC Press, ISBN-10: 1-4200-6213-1.

Vedoucí diplomové práce:

MVDr. Ivan Holko, Ph.D.

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

4. ledna 2010


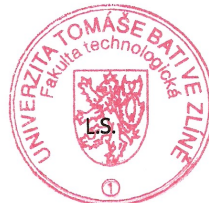
Termín odevzdání diplomové práce:

19. května 2010

Ve Zlíně dne 8. dubna 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: VEČEROVÁ KAROLÍNAObor: THEVP

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 19.5.2010.

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací;

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k vyšší výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

Poděkování

Chtěla bych poděkovat vedoucímu mé diplomové práce MVDr. Ivanu Holkovi, PhD. za odborné vedení, cenné rady a připomínky, které mi poskytoval při vypracování mé diplomové práce.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

ABSTRAKT

Probiotika jsou živé mikroorganismy, které příznivě ovlivňují zdravotní stav hostitele. Jejich podávání může zlepšit zažívání, pomoci k vyléčení průjmu atd. Vlákna je směs mnoha složitých organických látek, z nichž každá má unikátní fyzikální a chemické vlastnosti. Pomáhá zlepšovat stav sliznice tlustého střeva, snižuje hladinu cholesterolu a reguluje trávení a pravidelnost stolice.

Klíčová slova: probiotika, prebiotika, symbiotika, vlákna, adherence

ABSTRACT

Probiotics are live microorganisms which positively affect the health of the host. Their use can improve digestion, help to cure diarrhea etc. Fiber is a complex mixture of many organic compounds, each of which has unique physical and chemical properties. Helps improve the state of the mucosa of the colon, reduces cholesterol and regulates digestion and bowel regularity.

Keywords: probiotics, prebiotics, symbiotics, dietary fiber, adherence

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST.....	11
1 CHARAKTERISTIKA POJMU PROBIOTIKUM, PREBIOTIKUM, SYMBIOTIKUM.....	12
1.1 PROBIOTIKA.....	12
1.2 PREBIOTIKA.....	15
1.3 SYMBIOTIKA.....	16
2 PŘEHLED ZÁKLADNÍCH PROBIOTICKÝCH BAKTERIÍ A JEJICH CHARAKTERISTIKA.....	18
2.1 ROD LACTOBACILLUS.....	18
2.2 ROD BIFIDOBACTERIUM.....	20
2.3 ROD STREPTOCOCCUS.....	21
2.4 JINÉ BAKTERIE (ESCHERICHIA COLI, ENTEROCOCCUS FAECIUM, ...)	22
2.4.1 Escherichia coli.....	22
2.4.2 Saccharomyces boulardii.....	23
2.4.3 Enterococcus faecium.....	23
2.5 VYBRANÉ PROBIOTICKÉ BAKTERIE A JEJICH UVÁDĚNÉ ÚČINKY.....	24
3 MECHANISMUS PŮSOBENÍ PROBIOTIK NA ORGANISMUS.....	25
3.1 VLIV NA TRÁVENÍ.....	25
3.2 VLIV NA OBRANYSCHOPNOST.....	27
4 VLÁKNINA A JEJÍ PŮSOBENÍ NA TRÁVENÍ A ORGANISMUS.....	29
4.1 ROZDĚLENÍ VLÁKNINY.....	29
4.2 ZDROJE VLÁKNINY	31
4.3 POZITIVNÍ ÚČINKY VLÁKNINY NA NÁŠ ORGANISMUS.....	32
4.4 DOPORUČENÝ DENNÍ PŘÍJEM VLÁKNINY	32
5 DRUHY VLÁKNINY POUŽÍVANÉ V POTRAVINÁŘSTVÍ.....	34
5.1 BRAMBOROVÁ VLÁKNINA.....	34
5.2 PŠEŇIČNÁ VLÁKNINA.....	34
5.3 VLÁKNINA Z CUKROVÉ ŘEPY.....	35
5.4 MRKVOVÁ VLÁKNINA.....	35
5.5 CITRUSOVÁ A OVOCNÁ VLÁKNINA.....	35
6 ADHERENČNÍ VLASTNOSTI A MIKROORGANISMŮ A METODY JEJICH STUDIA.....	38
6.1 ADHERENCE BAKTERIÍ A JEJÍ MECHANISMY.....	38
6.2 ÚPLATNĚNÍ ADHERENCE MIKROORGANISMŮ V ŽIVÝCH SOUSTAVÁCH.....	39

6.3	METODY STUDIA ADHERENČNÍCH VLASTNOSTÍ MIKROORGANISMŮ	39
6.3.1	Metoda MATH.....	40
II	PRAKTICKÁ ČÁST.....	41
7	CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE.....	42
8	MATERIÁL A METODIKA.....	43
8.1	POUŽITÉ VZORKY VLÁKNINY	43
8.2	POUŽITÉ MIKROORGANISMY.....	43
8.3	POMŮCKY.....	44
8.4	POUŽITÉ ROZTOKY, CHEMIKÁLIE A ŽIVNÉ PŮDY.....	44
8.4.1	Fosfátový pufr.....	44
8.4.2	Živné půdy.....	44
8.5	METODIKA.....	45
8.5.1	Příprava bakteriální suspenze o standardní koncentraci dle jednotek Mac Farlanda (MF).....	45
8.5.2	Příprava suspenze vlákniny.....	46
9	VÝSLEDKY.....	47
10	DISKUZE.....	50
	ZÁVĚR.....	57
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	63
	SEZNAM OBRÁZKŮ.....	64
	SEZNAM TABULEK.....	65

ÚVOD

V posledních 20 až 30 letech se věnovalo velké úsilí zlepšení zdravotního stavu populace modulací střevní mikroflóry hostitele prostřednictvím živých mikroorganismů, které byly označovány jako probiotika. Probiotika jsou bakterie mléčného kvašení, především rodů *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*, které mají prospěšný vliv na svého hostitele bez ohledu na jejich nutriční hodnotu. Jsou běžnou součástí fermentovaných mléčných výrobků, po jejichž konzumaci se stávají součástí přirozené střevní mikroflóry. Probiotika jsou zkoumána v souvislosti s prevencí i léčbou onemocnění řady orgánových systémů. Nejvíce provedených studií se váže k problematice onemocnění gastrointestinálního traktu. Probiotika se také podílejí na metabolismu a mají imunostimulační účinek.

V lidské výživě má také nezastupitelné místo vláknina. Jednotlivé složky vlákniny mají své specifické fyziologické účinky v trávicím traktu člověka, vyplývající z její schopnosti vázat vodu a různé další látky, příp. škodlivé i karcinogenní látky, které se do těla dostanou s potravou nebo které v něm z potravy vznikají.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 CHARAKTERISTIKA POJMU PROBIOTIKUM, PREBIOTIKUM, SYMBIOTIKUM

Probiotika jsou převážně bakterie mléčného kvašení, především rodů *Streptococcus*, *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*, které mají prospěšný vliv na svého hostitele bez ohledu na jejich nutriční hodnotu. Jsou běžnou součástí fermentovaných mléčných výrobků, po jejichž konzumaci se stávají součástí přirozené střevní mikroflóry. Ochránují svého hostitele před kolonizací patogenními mikroorganismy, stimulují imunitní systém, mají metabolické účinky a zvyšují utilizaci vápníku, fosforu a železa. Prebiotika jsou především oligosacharidy, které vytvářejí vhodné nutriční prostředí pro kolonizaci probiotik. Obě skupiny jsou používány především v terapii různých typů diarrhoické dyspepsie. Řada studií prokázala i antikarcinogenní účinky probiotik. Symbiotika jsou nejmladším termínem. Jsou kombinací prebiotik a probiotik.[7, 9]

Problematika probiotik a prebiotik je dlouhodobě studována celou řadou vědeckých týmů a institucí po celém světě. Od roku 2002 pracuje mezinárodní společnost ISAPP (International Association for Probiotics and Prebiotics). Tato tematika je předmětem studia i dalších organizací, např. IDF (International Dairy Federation), která má dva takzvané „akční týmy“. Jeden z nich se zabývá metodami identifikace probiotických bakterií a druhý stanovením počtu probiotických bakterií v mléčných kysaných výrobcích. Problematikou probiotik a prebiotik se v České republice zabývá např. Vědecký výbor pro potraviny (VVP) a pro výživu zvířat (VVZP), které spadají pod MZe ČR. Nově byla také v roce 2006 v ČR založena Společnost pro probiotika a prebiotika.[3]

1.1 Probiotika

Pojem probiotika poprvé použili Lilly a Stillwell v roce 1965. Označili tak látku produkovanou jedním prvokem, která stimulovala růst jiného prvoka. Slovo „probiotic“ bylo odvozeno z řeckého „pro život“. První zmínky o příznivých účincích zakysaných mléčných výrobků najdeme již v dávné minulosti, kdy je k léčbě některých onemocněních používali již antičtí lékaři.[3, 7]

Začátky probiotické terapie jsou spojovány s I. Mečnikovem, nositelem Nobelovy ceny za imunologii, který roku 1907 publikoval svojí práci, v níž jako první upozornil na příznivé zdravotní účinky konzumace fermentovaných mléčných výrobků. Mečnikov

si všiml, že se bulharští pastevci, kteří jedli hodně jogurtu, dožívali vysokého věku a těšili se dobrému zdraví. Byl přesvědčen, že klíčem k tělesné pohodě a dlouhověkosti je správná střevní flóra neboli správná kombinace bakterií žijících ve střevech a zvláštní důraz kladl na bakterie rodu *Lactobacillus*, jejichž různé druhy se využívají nejen k výrobě jogurtu, ale i sýrů, kysaného zelí, piva, moštu a mnoha potravin. Věřil, že jejich konzumace obnovuje prospěšnou skladbu střevní mikroflóry a zlepšuje trávení.[1,7,47]

Během posledních 20 až 30 let se věnovalo značné úsilí zlepšení zdravotního stavu populace modulací střevní mikroflóry hostitele prostřednictvím živých mikroorganismů, které byly označovány jako „probiotika“. Byla navržena řada definic probiotik. Podle HAVENAARA A KOL. lze probiotika definovat jako „mono nebo směsné kultury živých mikroorganismů, které jestliže se aplikují člověku nebo zvířeti, prospěšně ovlivňují hostitele zlepšením vlastností jeho vlastní mikroflóry“. Nejnovější výzkumy však ukazují, že nejenom živé mikroorganismy, ale i jejich neživé formy a určité složky buněčných stěn mikroorganismů pravděpodobně mohou ovlivňovat hostitele. V současné době se však vyžaduje, aby se probiotické mikroorganismy aplikovaly do výrobků živé a svoji životaschopnost si zachovávaly co nejdéle časový interval.[2]

Ve většině studií je tato definice doplněna relativně přísnými požadavky pro léčebné využití probiotik.

Probiotika musí splňovat následující vlastnosti:

- jasná definice zárodků (humánní původ),
- musí být zaručena čistota zárodků,
- vyloučení faktorů patogenity (tvorba enterotoxinů a cytotoxinů, hemolýza atd.),
- jejich konzumace musí být bezpečná,
- musí být přítomny ve formě živých buněk a ve velkých množstvích (10^6 CFU/g),
- musí mít schopnost kolonizovat humánní intestinální trakt, minimálně přechodně,
- musí být rezistentní ke kyselinám a žluči,
- musí působit antagonisticky proti a patogenním bakteriím buď produkcí antimikrobiálních látek nebo tím, že jim konkurují,
- musí mít klinicky prokázané zdravotní účinky.

Požadované vlastnosti z hlediska stability, technologické vlastnosti:

- musí si zachovávat ověřenou životaschopnost,
- po fermentaci si musí uchovat dobré organoleptické vlastnosti (chuť, vůni),
- během skladování musí udržovat mírnou kyselost, profil kyselosti musí být přijatelný,
- během výroby a skladování si musí zachovat schopnost kolonizace,
- ve fermentovaných výrobcích musí být během skladování stabilní,
- po sušení (vymrazováním a ostatních metodách sušení) musí být stabilní,
- identifikace kmenů musí být přesná.
- je třeba znát údaje o účincích, které závisejí na dávce.[2, 13, 17]

Probiotika jsou široce využívána k přípravě fermentovaných mléčných výrobků (např. jogurt), nebo lyofilizovaných kultur a v budoucnu budou pravděpodobně běžně obsažena i ve fermentované zelenině a masech.

Výhodou probiotik je, že procházejí horní částí gastrointestinálního traktu (GIT) bez poškození. Podílejí se tak na kolonizaci střeva společně s přirozenou střevní mikroflórou, se kterou společně chrání GIT před patogenními mikroorganismy produkcí antimikrobiálně působících látek (především kyseliny mléčné, kyseliny octové, peroxidu vodíku). Probiotika se také podílejí na metabolismu a mají imunostimulační účinek. Díky obsahu polysacharidů a peptoglykanů ve své buněčné stěně aktivují makrofágy a zvyšují hladinu imunoglobulinu IgG2, který stimuluje slizniční a střevní imunitu.[9]

Probiotika se dnes běžně používají v terapii digestivních infekcí (infekční průjemy), při dysmikrobiích, snižování hladiny cholesterolu, idiopatických střevních zánětech, pro zlepšení laktóзовé intolerance, při kožních onemocněních, uroinfekcích, jaterní encefalopatii i nádorových onemocněních.[5, 15]

Probiotika jsou zkoumána v souvislosti s prevencí i léčbou onemocnění řady orgánových systémů. Nejvíce provedených studií se váže k problematice onemocnění gastrointestinálního traktu. Zkoumán je efekt probiotik v prevenci postantibiotického průjmu, průjmu cestovatelů a průjmu způsobeného *Clostridium difficile*. Z léčebného hlediska je pozornost zaměřena na akutní a chronická průjmová onemocnění dětí

a dospělých, včetně průjmů způsobených *Giardia intestinalis* a průjmů u pacientů s AIDS. [48]

1.2 Prebiotika

Za otce termínu prebiotikum jsou považováni Gibson a Roberfroid, kteří v roce 1995 definovali jako nestravitelné potravní ingredience, které příznivě ovlivňují hostitele prostřednictvím selektivní stimulace růstu a/nebo aktivity určitých bakterií v tlustém střevě. Prebiotika můžeme také charakterizovat jako látky přidávané do potravin, které příznivě působí na zdravotní stav tím, že selektivně stimulují růst či životní aktivity specifických „užitečných“ mikroorganismů (laktobacilů a bifidobakterií) ve střevech.

Jedná se o látky nestravitelné v tenkém střevě (vláknina, oligofruktany – tzv. colonic food), které přecházejí do tlustého střeva a jsou metabolizovány probiotickou flórou za vzniku krátkých mastných kyselin, aminokyselin, polyamidů, růstových faktorů a vitaminů. Mezi nestravitelnými sacharidy má většina oligosachridů (např. fruktooligosacharidy, galaktooligosacharidy, inulin) vyskytujících se v běžných potravinách takové vlastnosti, že je můžeme označit za prebiotika, neboť většina z těchto látek napomáhá růstu některých endogenních bifidobakterií. Jsou to například čekanka, cibule, česnek nebo artyčok. [7, 16]

Pokud nestravitelný sacharid podporuje růst veškeré mikroflóry tlustého střeva, působí jako tzv. „colonic food“ (potravin pro tlusté střevo). Na základě současných poznatků se tlusté střevo považuje za rozsáhlou oblast metabolické aktivity a interakcí, která má značný vliv na zdraví. Na funkci tlustého střeva se podílí i rezidentní mikroflóra. Základní substráty pro růst bakterií v tlustém střevě jsou nestravitelné sacharidy ze stravy. Jde především o rezistentní škrob, další složky vlákniny (např. celulózu, pektiny a gumy), oligosacharidy, alkoholické cukry, popř. další. Hlavními konečnými produkty bakteriální fermentace v tlustém střevu jsou mastné kyseliny s krátkým řetězcem, především kyselina octová, propionová a máselná. *Colonic food* se definuje jako potravinářská přísada, která se dostává do tlustého střeva a slouží jako substrát pro endogenní bakterie, čímž nepřímo poskytuje hostiteli energii, metabolické substráty a esenciální mikronutrienty.

Určité komplexní sacharidy mohou mít další - pro zdraví prospěšné - funkce, např. inhibují adhezi patogenních mikroorganismů ke stěvné mukóze.[2]

Aby určité potravinářské přísady fungovaly jako prebiotika, měly by splňovat několik kritérií, které v roce 2007 definoval Marcel Roberfroid:

- musí to být látky rezistentní vůči žaludečním kyselinám a vůči hydrolytickým enzymům v trávicím traktu,
- musí být fermentovatelné střevními bakteriemi,
- musí selektivně stimulovat růst a/nebo aktivitu střevních bakterií, které mají příznivý vliv na hostitelovo prospívání a zdravotní stav.[3]

Je prokázáno, že řada oligosacharidů má bifidogenní vlastnosti a tudíž funguje jako prebiotika. Po konzumaci oligosacharidů dochází k nadměrnému růstu bifidobakterií a ke snížení počtu ostatních bakterií, např. *Clostridium perfringens*, fusobakterií a bakteroidů. Další prospěšnou vlastností bifidogenních oligosacharidů je zvýšení biomasy výkalů (hmotnosti a četnosti stolice). V pokusech na krysách se zjistilo, že oligosacharidy stimulují absorpci vápníku a hořčíku. Studiemi na lidech se však tyto účinky jednoznačně nepotvrdily.[2]

1.3 Symbiotika

Symbiotika jsou definována jako produkty, které obsahují jak probiotika, tak prebiotika, přičemž se očekává tzv. synergický účinek od těchto dvou složek. Prebiotika s probiotikem se nazývá symbiotikum. V symbiotiku je probiotikum kombinováno s prebiotikem, které je pro něj specifické, např. frukto-oligosacharid s kmenem bifidobakterie. Tato kombinace potom přispívá k prodloužení přežití probiotika, pro které je prebiotikum specifickým substrátem vhodným k fermentaci. Přestože je stále počet studií se symbiotiky malý, jejich pozitivní účinek byl pozorován v terapii ulcerózní kolitidy, v léčbě minimální jaterní encefalopatie u cirhotiků, prevenci infekce při jaterní transplantaci, a dokonce ve zvířecím modelu se snížil výskyt rakoviny tlustého stěva. Nejjednodušším příkladem symbiotika pro lidskou výživu je jogurt s obsahem probiotických bifidobakterií a prebiotickou oligofruktózou.[3, 52]

Tab. 1. Nejdůležitější výhody a nevýhody probiotik, prebiotik a symbiotik [2]

Probiotikum	+	Prebiotikum	=	Symbiotikum
Problém se stabilitou bakterií ve výrobku během skladování		Dobrá stabilita oligosacharidů během zpracování a skladování výrobku		Problém stability bakterií ve výrobku během skladování, určití zlepšení přináší i bifidogenní sacharid
Problém se stabilitou bakterií během průchodu horní částí trávicího traktu		Stabilita oligosacharidu během průchodu horní částí trávicího traktu		Problém stability bakterií během průchodu horní částí trávicího traktu
Bakterie, které přežijí, projeví v tlustém střevu své probiotické účinky		Oligosacharidy se dostávají do tlustého střeva, kde podporují endogenní pozitivní mikroflóru		Bakterie, které přežijí, projeví v tlustém střevu své probiotické účinky. Dodatečná podpora probiotických nebo endogenních mikroorganismů pomocí prebiotik

2 PŘEHLED ZÁKLADNÍCH PROBIOTICKÝCH BAKTERIÍ A JEJICH CHARAKTERISTIKA

Mikroorganismy považované za probiotické lze rozdělit do dvou skupin. První skupina zahrnuje bakterie mléčného kvašení. Jedná se o heterogenní skupinu grampozitivních bakterií, jejichž metabolismem vzniká kyselina mléčná. Jde o bakteriální druhy ze tří rodů; *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* a *Streptococcus*. Do druhé skupiny jsou zařazovány probiotické organismy, které představují nepatogenní izoláty, např. *Escherichia coli*, *Clostridium butyricum* nebo kvasinku *Saccharomyces boulardii*, tj. mikrobiálních rodů, které zahrnují i potenciálně patogenní kmeny. [24]

Vědecká klasifikace mikroorganismů je složitá: bakterie nejsou klasifikovány podle struktury, ale podle účinku. Když se studiem mikroorganismů začínalo, nebylo technicky možné jejich strukturu určit a při zařazování se vycházelo z jejich vlastností. Rozdělení a klasifikace bakterií byla možná pouze podle jejich účinku. Tento způsob zařazování začíná být problematický ve chvíli, kdy jsou u daného mikroorganismu objeveny nějaké nové vlastnosti – pak je nutné ho „překlasifikovat“. Probiotické účinky jsou však dokázány jen u některých konkrétních typů bakterií. Nemůžeme očekávat, že stejný (nebo vůbec nějaký) pozitivní účinek na lidské zdraví budou mít všechny mikroorganismy daného kmene nebo celého studovaného druhu.[24]

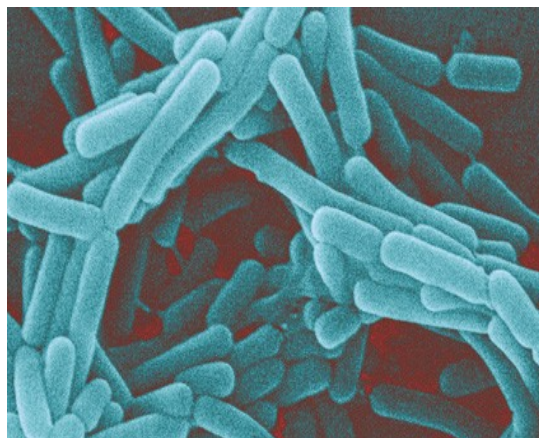
2.1 Rod *Lactobacillus*

Rod *Lactobacillus* zahrnuje rozmanitou skupinu G+, fakultativně anaerobních, katalasa negativních, nesporulujících tyčinek. Tyto mléčné bakterie jsou typicky chemoorganotrofní, zkvašují cukry za vzniku kyseliny mléčné, jako hlavního produktu. Teplotní rozmezí pro růst tohoto rodu je široké, pohybuje se mezi 15°C – 45°C, závisí na druhu bakterií; termofilní druhy rodu *Lactobacillus* přežijí i teploty 55°C. Optimální pH pro rod je 4,5 až 6,4, hodnoty ale také závisí na druhu.

Mezi tyto kmeny patří:

- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*

- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*
- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus salivarius* [22]



Obr. 1: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*



Obr. 2: *Lactobacillus salivarius*

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* Laktobacily se nacházejí ve fermentovatelných rostlinných a živočišných materiálech, méně v trávicím a zažívacím traktu lidí a zvířat. Jsou to saprofité, velmi zřídka patogenní. [18]

Intestinální trakt lidí a zvířat obsahuje množství druhů laktobacilů, které v něm žijí jako

komenzální mikroflóra na mukózním povrchu epitelu. Nejvýznamnějším druhem je *Lactobacillus acidophilus*. Připisuje se mu blahodárný účinek na zdraví lidí a zvířat. Využívá se i v průmyslovém měřítku na výrobu acidofilního mléka pro lidi a sušeného acidofilního mléka pro krmné účely. Kysané mléka a farmaceutické preparáty s obsahem tohoto mikroorganismu se používají na obnovení normálního složení střevní mikroflóry po aplikaci antibiotik v léčbě (probiotické kysané mléka). *Lactobacillus salivarius* je pravděpodobně nejtypičtějším druhem ústní dutiny, ale nachází se i v intestinálním traktu. Jiné druhy laktobacilů z tohoto prostředí se přednostně více anebo méně izolují z přírodních lokalit.

2.2 Rod *Bifidobacterium*

Bakterie rodu *Bifidobacterium* jsou striktně anaerobní, G+, nesporelující, granulované, variabilní tyčinky, heterofermentativně zkvašující laktosu, za tvorby kyseliny mléčné a kyseliny octové, syntetizující vitamíny a produkující zdraví prospěšné mastné kyseliny s krátkým řetězcem. Teplotní optimum pro tento rod je v rozmezí 37°C a 41°C, ale minimum se pohybuje okolo 28°C a maximum okolo 43°C. Optimální hodnoty pH pro tento rod je mezi 6,5 a 7.



Obr. 3: *Bifidobacterium bifidum*

V kojeneckém věku tvoří až 95 % populace, osídlující tlusté střevo. Rod *Bifidobacterium* příznivě působí při průjmech (cestovatelské, po užívání antibiotik). S postupujícím věkem, účinkem antibiotik, či jiných toxických látek, může počet bifidobakterií výrazně klesat. Toto je možno zlepšit konzumací zakysaných mléčných výrobků obsahujících bifidovou kulturu.[18]

Jako probiotikum se v potravinářství využívají kmeny:

- *Bifidobacterium bifidum*,
- *Bifidobacterium longum*,
- *Bifidobacterium breve*,
- *Bifidobacterium infantis*. [18]

2.3 Rod *Streptococcus*

V taxonomii streptokoků se často užívají dva klasifikační systémy vedle sebe. Ve starším pojetí jejich klasifikace se rod *Streptococcus* dělí na šest skupin: pyogenní streptokoky, orální streptokoky, jiné streptokoky, anaerobní streptokoky, enterokoky a mléčné streptokoky.

V novějším klasifikačním systému je rozdělení do výše uvedených skupin ponechané s výjimkou vynechání anaerobních streptokoků a povýšení enterokoků a mléčných streptokoků na samostatné *rody*: *Enterococcus* a *Lactococcus*.

Buňky jsou kulaté nebo vejčité s průměrem < 2 µm. Pokud rostou v tekutém médiu, jsou uspořádané v párech, kratších či delších řetězcích. Jsou nepohyblivé, netvoří spóry, jsou grampozitivní a většinou fakultativně anaerobní.

Bakterie rodu *Streptococcus* jsou homofermentativní, tzn. že fermentují sacharidy hlavně na kyselinu mléčnou.[22]

Mezi kyselomléčné streptokoky zahrnujeme druhy:

- *Streptococcus lactis* – podle nového systému *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *Hordinae*.
- *Streptococcus raffinolactis* – podle nového systému *Lactococcus raffinolactis*, *Lactococcus garvieae* a *Lactococcus plantarium*. [22]

Teplotní optimum pro růst tohoto rodu je 37°C, s výjimkou termofilních druhu *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*. Jeho optimální teplota je 40 až 45 °C, je součástí zákysů při výrobě jogurtů a sýrů ementálského typu.[20]



Obr. 4: *Streptococcus salivarius* subsp.
thermophilus



Obr. 5: *Streptococcus lactis*

2.4 Jiné bakterie (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, ...)

2.4.1 *Escherichia coli*

Oproti ostatním mikroorganismům využívajících se jako probiotika je *Escherichia coli* gramnegativní bakterie. Je chemoorganotrofní, fakultativně anaerobní s metabolismem fermentativním i respiratorním. Vyskytuje se ve střevním traktu a některé kmeny jsou také zodpovědné za infekce člověka.[23]



Obr. 6: *Escherichia coli*

Nejvýznamnějším kmenem tohoto druhu, který je používán jako probiotikum, je *Escherichia coli* Nissle 1917, která je součástí přípravku Mutaflor. Tento kmen se vyznačuje přítomností fimbrií, které slouží k přichycení na střevní epitel. Produkuje antimikrobiální látky a mastné kyseliny s krátkým řetězcem, které slouží k podpoře motility a prokrvení střeva. Působí také na imunitní systém tím, že zvyšuje hladinu protilátek.[24]

2.4.2 *Saccharomyces boulardii*

Saccharomyces boulardii byla izolována ve 20. století z liči ovoce, které pochází z Indonésie. V 50. letech se pak začala tato kvasinka využívat k léčbě průjmů. *S.boulardii* blokuje růst *Clostridium difficile*, zvyšuje aktivitu laktózy a maltózy ve sliznici tenkého střeva, redukuje průnik sodíku a vody do střeva a pomáhá v indukci sekrečního IgA.[25]

2.4.3 *Enterococcus faecium*

Enterococcus faecium byl podobně jako *E. faecalis* izolován z výkalů člověka a teplokrevných živočichů. Je to gram pozitivní bakterie. Některé kmeny *E. faecium* vytváří na krevním agaru α -hemolýzu. Buňky rostou v rozmezí teplot 10-50°C.[26]

Bakterie *Enterococcus faecium* vytváří ve střevech nepříznivé prostředí pro původce střevních onemocnění, brání jejich množení, a napomáhají tak snížení rizika vzniku průjmů a jiných střevních potíží, jako je nadýmání a pocit plnosti. Přítomnost bakterií *Enterococcus faecium* ve střevním traktu má celkově příznivý účinek na střeva, zejména po léčbě antibiotiky. *Enterococcus faecium* má schopnost přilnout na střevní stěnu

a zabudovat se do kolonií užitečných střevních bakterií, čímž brání úniku těchto bakterií ze střeva a napomáhá tak obnovení rovnováhy ve střevní mikroflóře.[53]

2.5 Vybrané probiotické bakterie a jejich uváděné účinky

- *Lactobacillus acidophilus* La1 – zvyšuje imunitu, působí jako adjuvans (pomocný prostředek), lne k humánním intestinálním buňkám, vyvažuje střevní mikrofloru.
- *Lactobacillus acidophilus* CFB 1748- snižuje aktivitu fekálních enzymů, snižuje fekální mutagenitu, zamezuje průjmu v souvislosti s radioterapií, pomáhá při zácpě.
- *Lactobacillus* GG (ATCC 53013)- zamezuje průjmu při aplikaci antibiotik, upravuje a zamezuje průjmu způsobenému rotavirem, upravuje opakující se průjmy způsobené *Clostridium difficile*, působí preventivně při akutním průjmu, Crohnově chorobě, působí proti kariogenním bakteriím, vakcínové adjuvans.
- *Lactobacillus casei* Shirota - zamezuje střevním poruchám, upravuje průjem způsobený rotavirem, vyvažuje střevní mikroflórou, snižuje aktivitu fekálních enzymů, zvyšuje imunitu, bez vlivu na fekální enzymy.
- *Streptococcus thermophilus* a *Lactobacillus bulgaricus*- nezjištěn účinek při průjmu způsobeném rotavirem, při průjmu způsobeném rotavirem nedošlo ke zvýšení imunity, bez vlivu na fekální enzymy.
- *Bifidobacterium bifidum* – upravuje průjem způsobený rotavirem, vyvažuje střevní mikroflóru, upravuje virový průjem.
- *Lactobacillus gasseri* (ADH)- snižuje aktivitu fekálních enzymů, přetrvává ve střevním traktu.
- *Lactobacillus reuteri* – kolonizuje střevní trakt, dosud se ověřoval hlavně na zvířatech, pravděpodobně se uplatní v budoucnosti jako probiotikum.[22]

3 MECHANISMUS PŮSOBENÍ PROBIOTIK NA ORGANISMUS

Výživa hraje klíčovou roli v udržování rovnováhy střevní mikroflóry, a to jak prostřednictvím živin dodávaných ve stravě (vláknina, prebiotika, bílkoviny atd.), tak prostřednictvím probiotik.

Probiotické mikroorganismy, především laktobacily a bifidobakterie, mohou zmírnit nebo zabránit vzniku rozličných střevních poruch a tak významně redukovat riziko některých střevních onemocnění, jako jsou průjemy, rotavirová enteritida, idiopatické střevní záněty, akutní pankreatitida, kolorektální karcinom anebo průjem při HIV infekci. Probiotika se při těchto zdravotních problémech účastní tvorby nutričních substrátů střevní sliznice a tvorby steroidů z cholesterolu, také redukuje celkový cirkulující cholesterol, mají příznivý účinek na střevní imunitu, upravují porušení slizniční bariéry, eliminují toxiny a patogenní mikroby a napomáhají při regulaci střevních funkcí.[6, 7]

Po dobu podávání probiotik se zvyšuje počet bakterií s pozitivním účinkem na střevní funkce. Stejně tak však dochází ke zvyšování počtu jiných bakterií, které tvoří vlastní intestinální mikroflóru. Bylo tak prokázáno, že podáváním laktobacilů dochází k deseti až stonásobnému zvýšení počtu bakterií ve střevech nejen u laktobacilů, ale i u streptokoků již přítomných ve střevě.[7]

3.1 Vliv na trávení

Střevní mikroflóra má velkou metabolickou aktivitu, mění se během života a je významným faktorem, který ovlivňuje zdraví jedince. Význam těchto mikroorganismů byl dlouhou dobu opomíjen a zájem se soustřeďoval téměř výhradně na patogenní mikroorganismy, které jsou příčinou různých poruch trávicího ústrojí. Během posledních 20 až 30 let byla však značná pozornost věnována rovněž možnosti zlepšení zdravotního stavu člověka modulací jeho střevní mikroflóry.

Mikroflóra trávicího ústrojí představuje složitý ekosystém a současné znalosti o tomto systému jsou stále omezené. Uvádí se, že povrch lidského těla dospělého jedince má přibližně 1,75 m² a povrch trávicího ústrojí je asi 150–200 m². Trávicí ústrojí dospělého člověka obsahuje asi 10¹⁴ živých bakterií, což je přibližně 10krát více, než je celkový počet eukaryotických buněk ve všech tkáních lidského těla.[27]

Odhaduje se, že v tlustém střevu zdravých jedinců je obsaženo 300-400 různých druhů mikroorganismů schopných kultivace, které patří do více než 190 rodů. Značný podíl mikroflóry tlustého střeva však není v současné době existujícími technikami schopny kultivace.

Složení střevní mikroflóry je u zdravých jedinců poměrně stabilní, působením řady endogenních a exogenních faktorů se však může měnit. Jde např. o poruchy peristaltiky, rakovinu, chirurgické zákroky, onemocnění jater a ledvin, zhoubnou anémii, radioterapii, emocionální stres, stárnutí, poruchy imunity, aplikace antibiotik aj.[2]

Podle statistických údajů agentury TNS AISA spol. s.r.o. z roku 2008 trpí občasnými zažívacími problémy až 80 procent žen, což je o 10 procent více než v roce 2006. Stále narůstající počet lidí se zažívacími obtížemi do značné míry souvisí s dnešním životním stylem- tedy vyšší mírou stresu, nedostatkem pohybu, špatnými stravovacími návyky a nedostatkem tekutin. K nejčastějším projevům zažívacích problémů patří nafouklé břicho, pocity těžkosti, překyselení, plynatost, křeče a pocit celkového nepohodlí. To vše může být zároveň provázeno únavou, poruchami koncentrace a prohloubením psychické nepohody. [4]

V řadě studií se zřetelně prokázalo, že probiotické kultury (nebo fermentované mléčné výrobky, které tyto kmeny obsahují) stabilizují ekosystém střev.

Nejnovější práce z 90.let prokázaly, že:

- jogurt obsahující živé mléčné bakterie zvyšují odolnost proti *Salmonella typhimurium* nebo přetrvávajícímu průjmů
- fermentované mléko obsahující *L. acidophilus* La1 a bifidobakterie indukuje změny ve střevní mikrofloře a moduluje imunitní odezvu u lidí
- některé probiotické kmeny jsou účinné při léčení různých typů střevních obtíží.

Lze konstatovat, že použití probiotik snižuje výskyt a dobu některých průjmových onemocnění. Zvláště zřetelné je to v případě průjmů způsobených rotaviry. Nepřímé důkazy existují i pro pozitivní ovlivnění průjmů bakteriálního původu, zvláště průjmů provázejících terapii antibiotiky a průjmových onemocnění cestovatelů. Probiotika podle některých studií pozitivně ovlivňují i průběh nekrotizující enterokolitidy u nedonošených dětí. Mimořádná pozornost byla věnována pozitivnímu účinku podání probiotických

mikroorganismů těhotným ženám a poté také kojencům.

3.2 Vliv na obranyschopnost

Imunitní systém je soubor mechanismů, které se podílejí na rozeznávání a likvidaci cizích či vlastních látek, které by mohly být pro organismus škodlivé. Imunitní systém tedy plní obrannou funkci našeho organismu.[28]

Škodlivé mikroorganismy, volné radikály, cizí sloučeniny, ale i stres a další faktory mohou útočit na lidský organismus, snižovat jeho obranyschopnost a vyvolat nemoc. Naše tělo však disponuje přirozeným obranným systémem, kterým se může před těmito agresory účinně chránit. Důležitou součástí tohoto obranného systému je mimo jiné i trávicí trakt.

Střevo je odpovědné nejen za trávení potravy, ale rovněž za celou řadu hormonálních, motorických, nervových a imunitních funkcí, z nichž několik hraje důležitou roli při vytváření bariéry mezi vnější prostředím a naším organismem a je důležitým imunitním orgánem. Obrannou funkci střeva tvoří tři důležité linie: střevní mikrobiální flóra, střevní sliznice a střevní imunitní systém.[4]

Současná probiotická vlna přinesla jednoznačné důkazy o imunomodulačních účincích symbiotických mikroorganismů v tlustém střevu. Probiotika jako původně cizorodé mikroorganismy vstupují do intenzivních vzájemných kontaktů se střevním imunitním systémem a mají typický imunomodulační účinek: mohou normalizovat nedostatečnou i nadměrnou imunitní odpověď. Imunomodulační aktivitu probiotik charakterizuje několik mechanismů:

- Stimulace mechanismů přirozené imunity, tvorby sekrečního IgA a místní imunitní odpovědi.
- Udržování neatopického fenotypu stimulací tvorby Th1 lymfocytů a fyziologické rovnováhy mezi Th1 a Th2 lymfocyty.
- Snížení neregulovaného zánětu v GIT a přecitlivělosti na potravinové alergeny prostřednictvím zvýšené tvorby regulačních subpopulací pomocných T lymfocytů.

[29]

Nepatogenní mikroorganismy v lidském střevě mají zásadní význam pro rozvoj tolerance imunitního systému a konstituci neatopického fenotypu. Důležité je zřejmě

navození periferní T buněčné tolerance na potravinové a inhalační alergeny. Předpokládá se, že nedostatek aktivačních signálů prostřednictvím PRR epitelových a dendritických buněk GIT způsobí narušení regulační funkce T lymfocytů a nedostatečnou periferní toleranci alergenů.[29]

Slibné výsledky byly zjištěny při použití probiotik u autoimunitních onemocnění: idiopatických střevních zánětů, ulcerózní kolitidy, atopické dermatitidy i jako prevence alergií. O oblasti existujících imunodeficiencí existuje několik studií, které dokumentují preventivní účinek podávání probiotik na incidenci sezonních respiračních onemocnění u dětí.[29]

Vývoj v oblasti probiotik směřuje k selektivnímu použití konkrétních, jasně definovaných kmenů s prokázaným účinkem u konkrétních klinických stavů.

4 VLÁKNINA A JEJÍ PŮSOBENÍ NA TRÁVENÍ A ORGANISMUS

Příznivé účinky vlákniny jsou známy již od starověku, vědeckými metodami začala být však studována teprve až v první polovině minulého století. Koncem 30. let americký biochemik Alexander R. P. Walker porovnával skladbu stravy původního afrického obyvatelstva a bílých obyvatel žijících ve městech moderním stylem. V 50. letech začal Dr. Walker publikovat epidemiologické studie, které poukazovaly na extrémně nízký výskyt gastrointestinálních onemocnění (zánět slepého střeva, střevní polypy, rakovina tlustého střeva), ale i srdečně cévních onemocnění u původního obyvatelstva. Přestože byly od té doby publikovány na toto téma stovky vědeckých prací, většina z nich jen málo vypovídala o druhu používané vlákniny, jejich fyzikálně chemických vlastnostech a čistotě. [30]

Pod pojmem vláknina je definována složka potravy, především rostlinného původu, která není rozkládána enzymy trávicího traktu.[31]

Vláknina je směs mnoha složitých organických látek, z nichž každá má unikátní fyzikální a chemické vlastnosti.

Nejčastěji se pod pojem vláknina dříve zařazovaly celulóza a lignin, které tvořily skupinu tzv. hrubé vlákniny (angl. crude fibre). Jestliže se k této skupině přidaly ještě hemicelulózy a pektiny, pak se mluvílo o tzv. potravinové vláknině (angl. dietary fibre). Pod názvem vláknina se dnes skrývají i jiné více či méně známé složky, kam patří např. rostlinné gummy, slizy, různé skupiny oligosacharidů apod.[33]

4.1 Rozdělení vlákniny

Z nutričního hlediska rozeznáváme polysacharidy :

- **využitelné**
- **nevyužitelné** (dříve označováno za balastní), neboť enzymový aparát pro jejich trávení u člověka a dalších živočichů chybí (neštěpí se sacharasy trávicího ústrojí).[33]

Za využitelné polysacharidy se považují rostlinné škroby a živočišný glykogen. Mezi

nevyužitelné polysacharidy se řadí celuloza, hemicelulosa a pektin, dále polysacharidy používané jako aditivní látky (polysacharidy mořských řas, mikrobiální polysacharidy, rostlinné gummy a slizy, některé modifikované polysacharidy) a lignin, z živočišných polysacharidů chitin. Souhrnně se tyto látky nazývají sice nepřesným a obtížně definovatelným, avšak všeobecně rozšířeným termínem vláknina nebo vláknina potravy.

Podle rozpustnosti ve vodě se dále rozeznává:

- **rozpustná vláknina**
- **nerozpustná vláknina** [33]

Rozpustná vláknina, především inulin, působí jako prebiotikum a udržováním střevní mikroflóry napomáhá zvyšovat odolnost střeva proti choroboplodným mikroorganismům a předcházet tak průjmům. Ke zmírnění průběhu průjmu přispívá i mechanismus účinku rozpustné vlákniny. Jako prebiotikum společně s probiotiky nepřímo ovlivňuje imunitní systém, chrání naše střevo před zánětlivým a nádorovým onemocněním.

Nerozpustná vláknina zlepšuje střevní peristaltiku, protože urychluje průchod tráveniny zažívacím systémem. Nabobtnalá vláknina díky vstřebané vodě naplňuje žaludek, působí pocit sytosti, trávení vláknitých jídel se v žaludku prodlužuje, pocit hladu se dostaví později. Navíc je vláknina téměř bez kalorií a bez tuku. Naopak cukr je absorbován pomaleji, hladina krevního cukru stoupá pozvolna, inzulin se tedy také vylučuje pomaleji a méně (právě inulin se používá v jídelníčku diabetiků jako náhražka glukózy). Zvýšenou konzumací vlákniny dále dochází ke snižování absorpce cholesterolu z potravy a tím ke snižování hladiny krevního cholesterolu. Při snižování nadváhy a hubnutí je nutné volit především nerozpustnou vlákninu, zvýšit její přísun. Zdrojem nerozpustné vlákniny může být celozrnné pečivo, musli, rýže natural, celozrnné těstoviny, luštěniny. Velmi vysoký obsah vlákniny má také lněné semínko nebo pšeničné klíčky. Jelikož náš trávicí systém neumí vlákninu štěpit, není pro nás vláknina zdrojem energie.

4.2 Zdroje vlákniny

Jednotlivé složky vlákniny jsou v různých zdrojích zastoupeny v různém poměru. K nejvýznamnějším zdrojům vlákniny patří obiloviny (obilné otruby, celá zrna, mouka, kroupy, ovesné vločky, celozrnný chléb a pečivo), luštěniny, zelenina, ovoce, brambory, semínka a ořechy. U obilovin je nejvíce vlákniny skryto v povrchových vrstvách zrna, proto je daleko vyšší obsah vlákniny v celozrnné mouce než v mouce bílé, což samozřejmě platí i pro výrobky z nich. Hodně vlákniny je skryto zejména v bobulovitém ovoci, které obsahuje drobná semínka- např. angrešt a rybíz. Mladé rostliny a mladé plody obsahují hlavně hemicelulózu a pektiny, u starších převažuje celulóza, pektin a lignin. K příjmu vlákniny mohou přispívat i tzv. funkční potraviny obohacené vlákninou, tyto potraviny nemusí být nutně rostlinného původu (např. jogurtové mléko s obsahem vlákniny).[51]

Díky své chemické struktuře na sebe vláknina váže různé látky (minerální látky, žlučové soli, stopové prvky, škodlivé chemikálie vznikají během kulinární přípravy stravy) a tím, urychluje jejich vylučování z těla. Rozpustná vláknina je částečně štěpena ve střevě pomocí bakteriálních enzymů, přispívá tak i k výživě těchto mikrobů, jež blahodárně působí a střevní trakt i na celkovou imunitu. S tímto procesem zároveň souvisí i nepříjemná tvorba plynů a nadýmání.

Strava s velkým obsahem vlákniny je objemnější než-li strava s nedostatkem vlákniny, srovnáme-li např. jídelníček se stejnou energetickou (kalorickou) hodnotou. V ústech vyžaduje strava s větším obsahem vlákniny vydatnější a delší žvýkání, což je nám většinou ku prospěchu. Především osobám s nadměrnými zásobami tělesného tuku se doporučuje, aby jedly pomalu, vydatně a dlouho žvýkaly, takže snědí menší množství jídla, přijímají menší energetickou hodnotu a mají dříve pocit nasycenosti. Tráveninou s větším obsahem vlákniny se žaludek více zaplní, což rovněž přispívá k častějšímu pocitu nasycení při poměrně malé energetické hodnotě. Účinek vlákniny na tenké střevo není vždy stejný a závisí na řadě podmínek, např. na rozpustnosti a na schopnosti vázat vodu. Důležitý je účinek na sacharidy a za významnou se považuje zejména schopnost zpomalovat vstřebávání jednoduchých cukrů, především řepného. Vstřebávání živin sliznicí střevní je pomalejší, je-li živina přijata v původní buněčné struktuře, než-li po jejím rozrušení.[34]

4.3 Pozitivní účinky vlákniny na náš organismus

Vláknina působí na lidský organismus celou řadou fyziologických účinků. Za řadu fyzikálních a chemických vlastností je zodpovědná její složitá povaha. [35] Jednotlivé složky vlákniny mají své specifické fyziologické účinky v trávicím traktu člověka, vyplývající z její schopnosti vázat vodu a různé další látky, příp. škodlivé i karcinogenní látky, které se do těla dostanou s potravou nebo které v něm z potravy vznikají.

Účinky vlákniny:

- pomáhá snižovat hladinu cholesterolu a tuků v krvi, touto schopností vyniká zejména pektin, snižuje tak riziko vzniku onemocnění srdce a cév,
- pomáhá regulovat trávení a pravidelnou stolicí, čímž brání vzniku zácpy, hemoroidů a divertikulitidy,
- pomáhá udržovat přiměřenou tělesnou hmotnost,
- snižuje riziko vzniku onemocnění nádorem tlustého střeva a konečníku,
- zlepšuje stav sliznice tlustého střeva,
- uplatňuje se při prevenci i léčbě diabetu, neboť pomáhá diabetikům udržet si stabilnější hladinu cukru v krvi tím, že zpomaluje vstřebávání cukru ze střeva do krve,
- pomáhá odstraňovat z těla některé škodlivé látky, například olovo a rtuť. [36, 50]

4.4 Doporučený denní příjem vlákniny

Podle doporučení Světové zdravotnické organizace (WHO) je doporučený denní příjem pro dospělého člověka asi 20- 35 g vlákniny na den. U dětí do deseti let je ale doporučení poněkud jiné, jako mnemotechnickou pomůcku lze použít pravidlo „věk dítěte + 5“, čili například tříleté dítě by mělo mít ve stravě přibližně 8 g vlákniny denně. Doporučenou hranici není vhodné příliš překračovat. Ideální poměr nerozpustné a rozpustné vlákniny by měl být 3:1, tak jak je tomu v přirozených potravinách, ikdyž tento stav není v současnosti příliš reálný. [37, 49]

Česká populace má ve svém stravování vlákniny nedostatek. Je to dáno hlavně stravovacími zvyklostmi a chuťovými preferencemi. Denní konzumace většího množství zeleniny, pravidelné zařazování celozrnných výrobků do jídelníčku či častá konzumace pokrmů z luštěnin stále nepatří k našemu obvyklému stravování. Mezi doporučenou dávkou vlákniny a její skutečnou konzumací je tedy značný rozdíl.[37]

S nižším příjmem vlákniny mohou mít úzkou souvislost i některé civilizační choroby. Zde uvádím některé z nich:

- celiakie
- hypercholesterolemie
- diabetes mellitus II. Typu
- obezita a její komplikace
- tepenná ateroskleróza (ischemická choroba srdeční, ischemická choroba dolních končetin, centrální mozkové příhody)
- cholelitiáza
- hypertenze [38]

5 DRUHY VLÁKNINY POUŽÍVANÉ V POTRAVINÁŘSTVÍ

5.1 Bramborová vláknina

Nejvýznačnějšími vlastnostmi bramborové vlákniny je její vynikající schopnost absorpce vody (1500%), stejně jako schopnost absorbovat disperzi oleje ve vodě (250%) a možnost použít ji jako významnou složku ve směsích s dalšími surovinami.

Při výrobě bramborového škrobu se se škrobová část brambory odděluje od její vlákninové části. Ta se stává bramborovou vlákninou a obsahuje buněčné stěny brambor, ve hmotnostním vyjádření pouze kolem 1%, zatímco škrob činí přibližně 20% celkové hmotnosti. Brambory jsou známé nízkým podílem alergenů, což znamená, že bramborová vláknina je nízkoalergenní hmotou.

Bramborová vláknina má mnoho výhod pro výrobky z masových směsí včetně párků a nádivek. S nádivkami se snadno zachází, mají stálý tvar a zvyšují zisk. 0,5 – 1,0 % bramborové vlákniny dokáže významně zvýšit kvalitu výrobku a tím zvýšit ziskovost. Bramborová vláknina hraje také významnou roli u emulzních párků a párků s hrubší strukturou. Typickým kladným výsledkem je snížení ztráty tekutiny při vakuovém balení, zvýšení výnosu při výrobě a snížení ztrát při přípravě těchto párků smažením, a to jak celých, tak nakrájených. Bramborová vláknina snese nízké hodnoty pH, vysoký obsah soli, sterilizaci i zmrazování. [39]

5.2 Pšeničná vláknina

Pšeničná vláknina obsahuje více než 97% vlákniny potravy. Vedle nutričního efektu je důležitá hlavně z hlediska technologického. Má výbornou schopnost vázat vodu i při nízkých teplotách, toho se využívá u zmrazených produktů. Pšeničná vláknina má jasně bílou barvu a nevýraznou chuť. Pšeničná vláknina se přidává do různých masných výrobků- mezi nejobvyklejší patří párky, sekaná masa a dušené šunký. Pšeničná vláknina zlepšuje stravitelnost, šťavnatost, stabilitu a konzistenci masných výrobků. Dále snižuje hmotnostní ztráty během tepelného opracování. Také snižuje energetickou hodnotu a obsah tuku ve výrobku. Požadovaného efektu lze dosáhnout již v přidaném množství 1-2%. [40]

5.3 Vlákna z cukrové řepy

Tato vlákna se získává při výrobě cukru. Vlákna se promyje, usuší a mele se na požadovanou jemnost. Mohou být použity i jiné, složitější postupy, zahrnující komplikovanější promývací proces včetně použití extrakčních a bělicích činidel. Vlákna z cukrové řepy má vysoký obsah rozpustné vlákniny. Absorbce vody a oleje je v porovnání s jinými druhy vlákniny nízká a také má tato vlákna tzv. zemitou příchut', což omezuje její použití v potravinářských výrobcích. [41]

5.4 Mrkvová vlákna

Mrkvová vlákna je relativně nový druh vlákniny nacházející své uplatnění v masných výrobcích. Nedávný americký patent popisuje proces výroby mrkvové vlákniny z řízku a slupek mrkve. Tento proces využívá benzoylperoxid jako bělicí prostředek k redukci barvy a chuti. Výsledná vlákna je vybělená a zbavená většiny mrkvové příchutě. Vysoká absorpční schopnost (1500%) této vlákniny se využívá při výrobě různých masných výrobků. Ale stejně jako u mnohých směsí rozpustné a nerozpustné vlákniny, je zde poměrně malá absorpce tuků (300%). [41]

V masném průmyslu se mrkvová vlákna přidává do párků, hamburgerů a jiných mletých výrobků, kde zlepšuje jejich konzistenci, udržuje šťavnatost, snižuje objemové ztráty během tepelného opracování a její použití má celou řadu dalších výhod z hlediska technologického a ekonomického.[42]

5.5 Citrusová a ovocná vlákna

Na trhu existuje celá řada citrusové a ovocné vlákniny. Zdrojem těchto materiálů jsou obvykle vedlejší produkty při výrobě citrusových šťáv a pektinu. Vlákna získaná lisováním produktů, jako jsou jablečné výlisky, má tendenci přispívat barevnými a chuťovými vlastnostmi a ty mohou omezit jejich použití. Vlákna získaná při výrobě pektinu má obvykle vyšší obsah vlákniny a je více v souladu s jejím nutričním profilem. Absorbce citrusové vlákniny je velmi vysoká a to pravděpodobně díky vysokému obsahu rozpustné vlákniny. Důležitým hlediskem při výrobě citrusové vlákniny je její chuť. Některé z těchto „vláken“ mají velmi nízké pH, které při použití v masných výrobcích

může způsobovat kyselou nebo hořkou příchut'.

Do masných výrobků je přidávána zejména z důvodů vysoké a stabilní vaznosti vody a pro snížení obsahu tuků. Záměrem výrobců je vytvořit dokonale měkké a šťavnaté potraviny.

[41]

Tab. 2. Vlastnosti jednotlivých druhů vlákniny [41]

Potravní vláknina, %					
Typ vlákniny	Celková	Nerozpustná	Rozpustná	Absorpce vody, %	Absorpce oleje, %
Celulóza (300 μm)	95	95	<1	740	470
Celulóza (20 μm)	95	95	<1	350	210
Ovesná vláknina (minimální extrakce)	85	81	<5	350	240
Ovesná vláknina (maximální extrakce)	93	90	<3	800	580
Pšeničná vláknina	93	91	<3	830	600
Sójová vláknina (ze slupky)	90	89	<1	300	200
Sójová vláknina (z dělohy)	70	62	8	1000	280
Hrášková vláknina (z dělohy)	70	65	5	1100	300
Mrkvová vláknina	85	65	20	1500	300
Citrusová vláknina	88	68	20	2000	290
Bramborová vláknina	69	56	6	1500	250
Vláknina z cukrové řepy	68	48	20	500	230

6 ADHERENČNÍ VLASTNOSTI A MIKROORGANISMŮ A METODY JEJICH STUDIA

Mikroorganismy mají silný sklon vázat se s povrchy. Jakmile jsou mikroorganismy připojeny k povrchu substrátu, začíná vícestupňový proces vedoucí k vytvoření komplexního, ulpívajícího mikrobiálního společenství, které nazýváme biofilm. Biofilm může být definován jako vrstva prokaryotických nebo eukaryotických buněk, ukotvených do povrchu substrátu a vložených do organické matrice biologického původu.[43]

6.1 Adherence bakterií a její mechanismy

Pojem adheze je definován různými způsoby podle toho, o jaký obor se jedná. Obecně můžeme adhezi definovat tak, že se jedná o stav, ve kterém jsou k sobě přiblíženy dva povrchy tak, že pro jejich oddálení je třeba energie. Tato energie je nejčastěji mechanická a měření pevnosti adheze má většinou charakter měření mechanické soudržnosti adhezního spoje.

U biologických systémů je pojem adheze komplikovanější. Adheze bakterií je situace, kdy se bakterie pevně přichytí k povrchu prostřednictvím komplexních fyzikálně-chemických interakcí mezi povrchem bakterie a substrátu. K tvorbě adhezního spojení mezi bakterií a povrchem je potřeba energie. U biologických systémů se mnohdy používá termín adherence, který je obecným popisem bakteriální adheze (iniciální proces připojení bakterie přímo k povrchu). Přílnutí můžeme definovat jako počáteční stádium bakteriální adheze, které se vztahuje spíše k fyzickému kontaktu než ke komplikovaným celulárním interakcím. Bývá obvykle vratné.

Vznik mikrobiální vrstvy lze rozdělit do několika stádií:

- První fáze (reverzibilní fáze) adheze zahrnuje počáteční interakci mezi mikroorganismem a substrátem, definovanou jako depozice nebo adsorpce organismu na povrch.
- Poté následuje fáze druhá (ireverzibilní fáze)- důležitou roli při propojování zde hraje propojování polymerů mezi organismem a povrchem

- V třetí fázi jde v podstatě o opakování první a druhé fáze, přičemž adheze usazujících se bakterií probíhá na již přilnuté organismy.
- V poslední fázi dochází k rozmnožování organismů přilnutých k povrchu, které postupně vede k plynulému růstu a tvorbě biofilmu.[44]

6.2 Uplatnění adherence mikroorganismů v živých soustavách

Biofilmy mohou být prospěšné (například rozkládají látky v půdě, které jsou nebezpečné pro životní prostředí), ale také nebezpečné. Mohou například způsobovat nebezpečí v potravinách, na zařízeních pro jatka a mohou vytvářet povlaky na trupech lodí či v dutině ústní.[43]

V lékařství je značná pozornost věnována udržení komenzální mikroflóry kůže, močových a střevních cest a dutiny ústní. V zubním lékařství se výzkum zabývá především předcházením a omezováním infekčních a patogenních biofilmů.

Přestože funkce a vzhled biofilmů může být rozdílný, všechny biofilmy pocházejí ze stejného sledu událostí.[43]

6.3 Metody studia adhezních vlastností mikroorganismů

Rovnováha mezi odpuzivými a přitažlivými interakcemi v mikrobiální adhezi je často velmi choulostivá a může být snadno narušená experimentálními podmínkami, jako například mírným proplachováním, máčením nebo výskytem jiných hydrodynamických sil. Tyto podmínky jsou často opomíjeny při výběru metod ke studiu mikrobiální adheze. A to navzdory skutečnosti, že nedostatek kontroly pracovních podmínek může přinést výsledky, které jsou poté neinterpretovatelné a brání srovnání výsledků s jinými laboratořemi.

Mikrobiální adheze je studována na různých úrovních složitosti v široké řadě experimentálních metod. Volba metody často souvisí s převládajícími podmínkami v přirozeném prostředí adhezního procesu v rámci studia, např. mořského životního prostředí, nebo vybraných částí lidského těla, jako jsou infekce močových cest, nosohltanu nebo dutiny ústní. Častěji se metoda studia volí podle požadavků na náklady, snadnosti

provozu metody nebo vědeckého zázemí výzkumných pracovníků.

Mezi nejčastěji používané metody pro studium adherence řadíme metodu MATH (Microbial Adhesion To Hydrocarbons).[43]

6.3.1 Metoda MATH

Vnější povrch mikrobiálních buněk obsahuje řadu chemických sloučenin, které mohou být zapojeny do připojení buněk na povrch. Hydrofobní / hydrofilní interakce hrají velkou roli v upevnění, což vede k rozvoji koncepce povrchové hydrofobnosti buňky jako měřítka tendence buňky připojit se k povrchu. Jedna z nejpoužívanějších metod je MATH (Microbial Adhesion To Hydrocarbons).[45]

MATH je spolehlivá a jednoduchá metoda. Celý proces probíhá ve zkumavce, která obsahuje tekutý uhlovodík, vyšetřovaný kmen mikroorganismu a fosfátový pufr (pH 7,1), který je nutný pro minimalizaci elektrostatických interakcí. Má-li mikroorganismus hydrofobní povrch, dochází po použití vortexu k adhezenci bakterií na kapičky uhlovodíku a jejich stoupání k povrchu a zároveň ke snížení hustoty bakteriálních buněk ve vodné fázi ve spodní části zkumavky. Tato metoda má mnoho výhod, nevyžaduje speciální vybavení a navíc lze adherovanou vrstvu bakterií mikroskopicky pozorovat na povrchu kapek uhlovodíků. MATH metody se také využívá k objasnění mechanismů adheze patogenních mikroorganismů k hostitelským tkáním.[46]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

7 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE

Charakterizovat bakterie mléčného kvašení s probiotickými účinky, popsat účinky probiotik na lidský organismus. Charakterizovat pojem vláknina a vyjmenovat nejčastěji využívané druhy vlákniny v potravinářství.

V praktické části diplomové práce bylo poté cílem zjistit za pomoci metody MATH (Microbial Adhesion To Hydrocarbons), jak moc se tři vybrané druhy mikroorganismů s probiotickým účinkem (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* a *Bifidobacterium longum*) dokážou navázat na jednotlivé druhy potravní vlákniny.

8 MATERIÁL A METODIKA

8.1 Použité vzorky vlákniny

Ke stanovení bylo použito 9 druhů vlákniny:

1. INULIN FIBRULIN XL
2. ARBOCEL L- Ligninocelulosa, JRS GmbH Co. KG, Německo
3. Bambus fiber R- 20901 ID 98, bambusová vláknina, ID Food, Francie
4. VITACEL Sugar beet fiber FIBREX 600, vláknina z cukrové řepy, JRS GmbH Co. KG, Německo
5. VITACEL Wheat fiber MF 200, pšeničná vláknina, JRS GmbH Co. KG, Německo
6. VITACEL Potato fiber KF 500, bramborová vláknina, JRS GmbH Co. KG, Německo
7. Carrot fiber R- 20902 ID 809, mrkvová vláknina, ID Food, Francie
8. CITRI- FI 100 M 40, citrusová vláknina, Fiberstar, Inc.
9. VITACEL Apple fiber AF 400, jablečná vláknina, JRS GmbH Co. KG, Německo

8.2 Použité mikroorganismy

V experimentální části této práce byly použity 3 druhy mikroorganismů, které byly získány z České sbírky mlékárenských kultur LAKTO- FLORA, Praha:

- *Lactobacillus acidophilus* CCDM 79
- *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* CCDM 70
- *Bifidobacterium longum* CCDM 569

8.3 Pomůcky

- Analytické váhy KERN 440-47 N, Německo
- Chlazená centrifuga HERMLE Z300K, Hermle Labortechnik, Německo
- Třepačka Heidolph Reax Top, Německo
- Denzitometr, DENSI- LA- METER, Made in EU
- Automatická mikropipeta Hirschmann, Hirschmann Laborgerate, Německo
- Běžné laboratorní sklo a pomůcky

8.4 Použité roztoky, chemikálie a živné půdy

8.4.1 Fosfátový pufr

Složení fosfátového pufru (PBS pufr)

Sůl	Koncentrace [mmol/ l]	Koncentrace [g/ l]
NaCl	137,00	8,00
KCl	2,70	0,20
Na ₂ HPO ₄	10,00	1,44
KH ₂ PO ₄	1,76	0,24
pH	7,40	7,40

8.4.2 Živné půdy

- **M17 Broth** (OXOID, England)- *Streptococcus thermophilus*

M17 bujón byl připraven dle návodu výrobce.

- **Lactobacillus MRS Broth** (HIMEDIA, India)- *Lactobacillus acidophilus*

MRS bujón byl připraven dle návodu výrobce.

- **Lactobacillus MRS Broth** (HIMEDIA, India) + NaHCO₃ (Lachema, CZ) 2g/l + Cystein (SIGMA Aldrich, Germany) 0,5%- *Bifidobacterium longum*

MRS bujón byl připraven dle návodu výrobce za současného přidání 2g/l NaHCO_3 a 0,5% cysteinu.

8.5 Metodika

Na testování adherence bakterií mléčného kvašení na vlákninu byly použity sbírkové kmeny *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus salivarius* subs. *thermophilus* a *Bifidobacterium longum*.

Adherenční schopnost bakterií byla zkoušena na 9 druzích vlákniny od několika výrobců. Šlo o tyto vlákniny: pšeničná, bramborová, mrkvová, citrusová, jablečná, inulin fibrulin, ligninocelulosa, bambusová vláknina a vláknina z cukrové řepy.

Adherence byla testována metodou MATH (Microbial Adhesion To Hydrocarbons) popsanou Rosenbergem a kol. (1983). [55]

8.5.1 Příprava bakteriální suspenze o standardní koncentraci dle jednotek Mac Farlanda (MF)

Bujón s namnoženým kmenem mikroorganismu byl centrifugován při otáčkách 2250 ot./min po dobu 10 minut při laboratorní teplotě.

Poté byl odebrán supernatant a zkumavka byla doplněna na objem 7-8 ml fosfátovým pufrům. Následně byl resuspendován pelet a zkumavka byla opět centrifugována při stejných podmínkách. Tento postup byl opakován do doby, než byl roztok naprosto čirý, bez zbytků bujónu.

Poté byl obsah zkumavky promíchán na třepačce a byla změřena jeho denzita na přístroji DENSI- LA- METER.

Ta se následně upravila pomocí ředění na požadovanou hodnotu kolem 3 Mc Farlanda a potřebné množství suspenze bylo alespoň 50 ml.

8.5.2 Příprava suspenze vlákniny

Na analytických vahách bylo naváženo 0,2 g vzorku jednotlivých druhů vlákniny. Následně bylo v 5 ml předem upravené bakteriální suspenze těchto 0,2 g vlákniny homogenizováno a nechalo se usadit po dobu 2 hodin.

Souběžně s tím bylo homogenizováno stejné množství příslušné vlákniny v 5 ml fosfátového pufru bez bakterií a také se nechalo usadit po dobu 2 hodin.

Po usazení byl ze zkumavek odebrán supernatant a měřena jeho denzita, od které byla odečtena denzita supernatantu po usazení vlákniny v čistém fosfátovém pufru bez bakterií (tzv. pozadí).

Potom byl spočítán procentuální úbytek zákalu po usazení vlákniny v bakteriální suspenzi.

Pro výpočet procentuálního úbytku zákalu po usazení vlákniny v bakteriální suspenzi byl použit tento vzorec:

$$Adh = 100 - \left(\frac{AS - (ASF - AF)}{AS} \right) \times 100$$

AS- absorbance bakteriální suspenze

ASF- absorbance bakteriální suspenze s vlákninou

AF- absorbance supernatantu po usazení vlákniny v pufru (pozadí)

9 VÝSLEDKY

Tab. 3. Adherence *Bifidobacterium longum* na vlákninu

Druh vlákniny	Zákal bakteriální suspenze před přidáním vlákniny (MF)	Zákal bakteriální suspenze po usazení vlákniny (MF)	Zákal pozadí (vláknina + PBS + pufr) (MF)	Zákal po odečtení pozadí (MF)	Úbytek zákalu (%)
Pšeničná vláknina	2,7	1,9	0,8	1,1	59,3
Bramborová vláknina	2,7	3,1	0,5	2,6	3,7
Mrkvová vláknina	2,8	3,8	1,2	2,6	7,1
Citrusová vláknina	2,6	3,5	0,9	2,6	0,0
Jablečná vláknina	2,8	5,3	3,0	2,3	17,9
Inulin fibrulin	3,1	6,2	3,7	2,5	19,4
Lignino celuloza	3,1	4,9	2,0	2,9	6,5
Bambusová vláknina	3,1	2,2	0,5	1,7	35,5
Cukrová řepa	3,1	4,3	1,6	2,7	12,9

Tab. 4. Adherence *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* na vlákninu

Druh vlákniny	Zákal bakteriální suspenze před přidáním vlákniny (MF)	Zákal bakteriální suspenze po usazení vlákniny (MF)	Zákal pozadí (vláknina + PBS pufr) (MF)	Zákal po odečtení pozadí (MF)	Úbytek zákalu (%)
Pšeničná vláknina	1,6	1,0	0,7	0,3	81,2
Bramborová vláknina	1,7	0,5	0,3	0,2	88,2
Mrkvová vláknina	1,5	1,0	0,4	0,6	60,0
Citrusová vláknina	1,9	1,1	0,1	1,0	47,3
Jablečná vláknina	2,2	2,5	0,9	1,6	27,3
Inulin fibrulin	3,2	5,7	2,7	3,0	6,3
Lignino celuloza	2,8	5,3	3,5	1,8	35,7
Bambusová vláknina	3,1	3,3	0,4	2,9	6,5
Cukrová řepa	2,9	4,6	2,0	2,6	10,3

Tab. 5. Adherence *Lactobacillus acidophilus* na vlákninu

Druh vlákniny	Zákal bakteriální suspenze před přidáním vlákniny (MF)	Zákal bakteriální suspenze po usazení vlákniny (MF)	Zákal pozadí (vláknina + PBS pufr) (MF)	Zákal po odečtení pozadí (MF)	Úbytek zákalu (%)
Pšeničná vláknina	2,2	1,4	0,8	0,6	72,7
Bramborová vláknina	2,4	2,5	0,5	2,0	16,7
Mrkvová vláknina	2,1	2,5	1,2	1,3	38,1
Citrusová vláknina	2,1	2,7	0,7	2,0	4,8
Jablečná vláknina	2,1	4,7	3,0	1,7	19,1
Inulin fibrulin	2,9	6,1	3,6	2,5	13,8
Lignino celulosa	3,0	5,4	4,6	0,8	73,3
Bambusová vláknina	2,9	1,9	0,6	1,3	55,2
Cukrová řepa	2,9	4,8	2,3	2,5	13,8

10 DISKUZE

Oblíbenost produktů, obsahujících probiotické bakterie vzrůstá a počet produktů s probiotickými mikroorganismy se výrazně rozšířil. V médiích se často objevují reklamy na mléčné výrobky obsahující prospěšné bakterie, veřejnosti však není známo, že ne všechny tyto bakterie se dostanou až na místo, kde mohou blahodárně působit. Řada bakterií při průchodu nepříznivým prostředím trávicího traktu zahyne. Aby mohla být bakterie označena jako probiotická, musí splňovat několik kritérií, které jsou popsány v teoretické části práce.

Při vývoji fermentovaných mléčných výrobků a dalších potravin obsahujících probiotické složky existují 2 limitující faktory. První je nutnost zachování životnosti bakterií nejen v potravině nebo doplňcích, ale i dále v zažívacím traktu. Druhým faktorem je pak zajištění identity použitých mikroorganismů. Používané probiotické mikroorganismy jsou buď aerobní nebo anaerobní. Trávicí soustava člověka však neposkytuje v celé své délce vhodné podmínky pro přežití těchto mikroorganismů. Překážkou může být například kyselé prostředí žaludku, sekrece žluči nebo přítomnost dalších střevních bakterií. [7]

Jak již bylo řečeno, některé mikroorganismy průchod přes agresivní prostředí žaludku a průchod tenkým střevem nepřežijí. Vlákna by mohla být řešením tohoto problému. Mikroorganismy se dokáží na vlákninu navázat a ta jim v podstatě poslouží jako nosič. Mikroorganismus adheze na vlákninu rychleji projde kyselým prostředím žaludku, trávenina se rychleji pasážeje. Člověk vlákninu nedovede strávit, ale mikroorganismy ji mohou využít ke svému růstu a rozmnožování. Vlákna může bakteriím posloužit nejen jako nosič, ale také je v tlustém střevě i potravou pro probiotické bakterie.

V experimentální části práce byla pomocí metody MATH zkoumána adherence bakterií mléčného kvašení s probiotickým účinkem na souboru devíti různých vzorků vlákniny.

Jak vyplývá z údajů v tabulce č. 3, bylo laboratorně prokázáno, že nejvíce se bakterie *Bifidobacterium longum* váže na vlákninu pšeničnou a bambusovou. Nejméně adhezivní pak byla vláknina citrusová a bramborová.

Ze druhé série provedených laboratorních měření, ve kterých byla zkoumána adherence bakterie *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* je zřetelné (viz. tabulka č. 4), že největší adhezi vykazuje vůči vláknině pšeničné a bramborové a nejmenší vůči inulin

fibrulinu a bambusové vláknině.

Při zkoumání adherence bakterií *Bifidobacterium longum* na vlákninu se z provedené série měření jeví lignino celulosa a pšeničná vláknina jako nejvíce adhezivní a citrusová vláknina jako nejméně adhezivní.

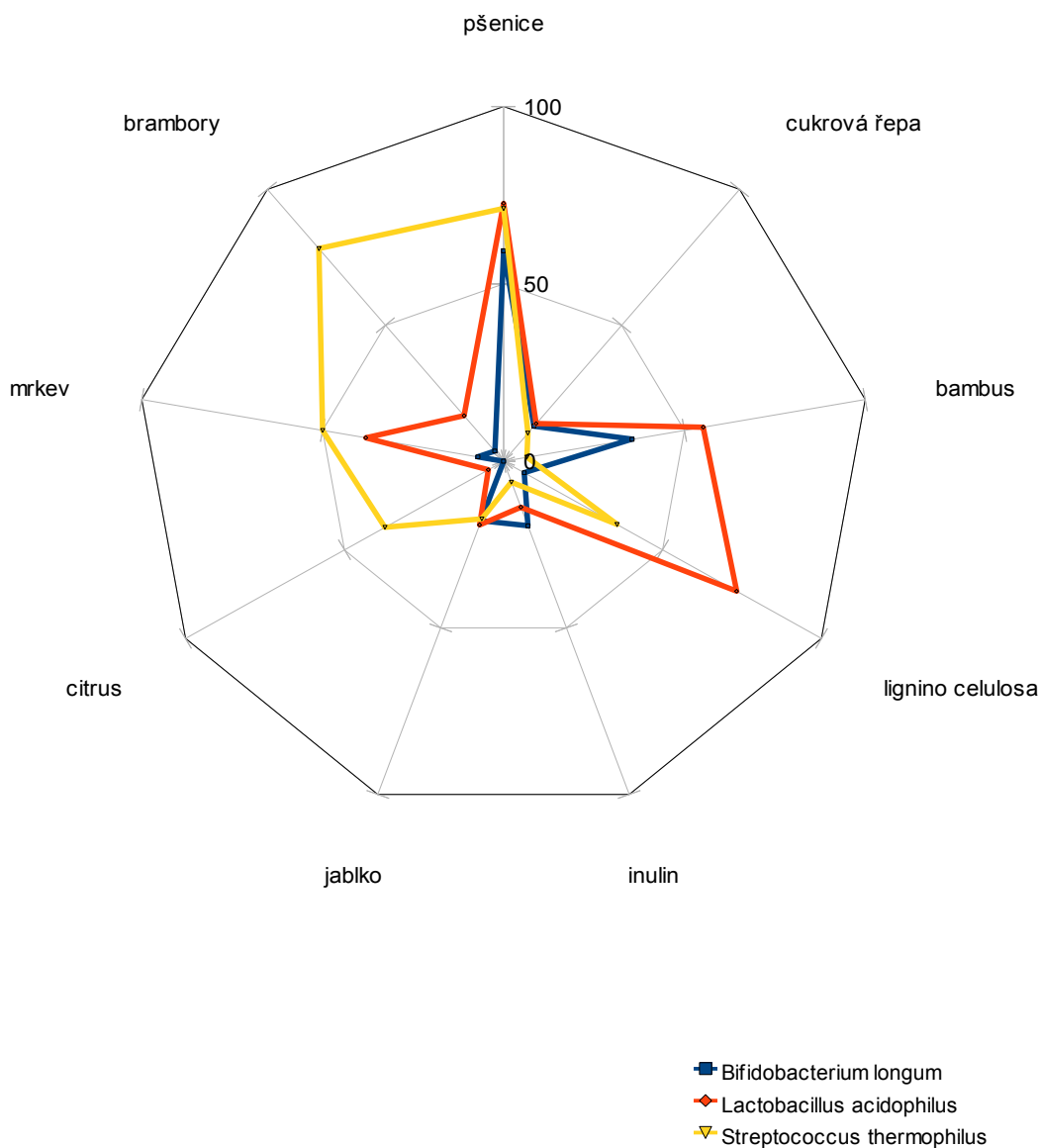
Jednotlivé vzorky byly důkladně posouzeny a porovnány. Z celkového hodnocení vyplynulo, že nejvyšší adhezenční schopnost má bakterie *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* a nejnižší *Bifidobacterium longum* (viz. tabulka č. 6).

Tab. 6. Retenční úbytek koncentrace bakterií v supernatantu po usazení vlákniny (%)

Druh vlákniny	<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
Pšeničná vláknina	59,3	72,7	71,2
Bramborová vláknina	3,7	16,7	78,2
Mrkvová vláknina	7,1	38,1	50,0
Citrusová vláknina	0,0	4,8	37,3
Jablečná vláknina	17,9	19,1	17,3
Inulin fibrulin	19,4	13,8	6,3
Lignino celulosa	6,5	73,3	35,7
Bambusová vláknina	35,5	55,2	6,5
Cukrová řepa	12,9	13,8	10,3

Retenční úbytek koncentrace bakterií v supernatantu po usazení vlákniny byl zanesen do grafu 1, z kterého je patrné, které druhy vlákniny jsou nejvíce adhezivní.

Obr. 7: Adherence probiotických bakterií na potravní vlákninu (%)



Jako nejvíce adhezivní ze všech 9 zkoumaných druhů vlákniny se jeví pšeničná vláknina a nejméně vláknina jablečná a vláknina z cukrové řepy, viz obrázek 7. Ani inulin nevykazoval vysokou míru adheze k probiotickým bakteriím. Vcelku vysokou adhezi, ale pouze vůči mikroorganismu *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, vykazovala bramborová vláknina.

Problematika probiotik a prebiotik je dlouhodobě studována celou řadou vědeckých týmů a institucí po celém světě. Probiotika jsou zkoumána v souvislosti s prevencí i léčbou onemocnění řady orgánových systémů. Nejvíce provedených studií se váže k problematice onemocnění gastrointestinálního traktu. Probiotika se také podílejí na metabolismu a mají imunostimulační účinek. Ochraňují svého hostitele před kolonizací patogenními mikroorganismy, stimulují imunitní systém, mají metabolické účinky a zvyšují využití vápníku, fosforu a železa. Jsou běžnou součástí fermentovaných mléčných výrobků, po jejichž konzumaci se stávají součástí přirozené střevní mikroflóry.

V současnosti se věnuje také velká pozornost výzkumu v oblasti vlákniny. Vycházejí práce zabývající se vlastnostmi vlákniny a působením jednotlivých složek vlákniny na funkce lidského organismu. Provádějí se také epidemiologické, ale i experimentální studie na různých druzích zvířat i klinické studie věnující se mechanismům působení jednotlivých složek vlákniny a možnostech jejich terapeutického využití.

Nejen odborníci, ale čím dál častěji projevuje zájem o vlákninu i laická veřejnost, která se snaží žít zdravě, vyhýbat se škodlivým vlivům a preferovat vlivy zdraví prospěšné. Vlákna je atraktivní i pro výrobce potravin vzhledem k uvádění na trh funkčních potravin.

Při konzumaci stravy s vysokým obsahem vlákniny prochází trávenina střevy rychleji, a tak se nemohou vstřebat všechny kalorie z potravy. Tím se snižuje nebezpečí nadměrného příjmu kalorií, navíc rakovinotvorné látky mohou působit na střevní stěny kratší dobu.

Účinek vlákniny v prevenci rakoviny může být ten, že vlákna potravy zkracuje interval mezi jídlem a defekací a tím minimalizuje dobu kontaktu karcinogenních složek potravy se střevní sliznicí.

Bylo zjištěno, že vlákna může působit v tlustém střevě jako prevence kolorektálního karcinomu několika mechanismy. Vlákna na sebe dokáže navázat sekundární žlučové kyseliny, které jsou promotory nádorového bujení, modifikuje enzymatickou aktivitu mikroflóry, snižuje intestinální pH, mění intestinální flóru snížením zastoupení hnilobných bakterií ve prospěch aerobních. Kyselina máselná působí příznivě na sliznici tlustého střeva, má schopnost indukovat programovaný zánik buněk u rakovinných buněk tlustého střeva (ale ne u zdravých), ředí obsah střevního lumen a zrychluje pasáž zažívacím traktem.

V tenkém střevě se vláknina působí různě. Příznivě ovlivňuje funkci tenkého střeva především vláknina nerozpustná. Zvětšuje se zde objem tráveniny a zkracuje se doba průchodu tenkým střevem. Tím klesá doba, po kterou dochází ke styku střevní stěny s tráveninou obsahující škodlivé látky.

V tlustém střevě vláknina také zvyšuje objem tráveniny, a to díky zadržení většího množství vody a zároveň biomasou pomnožených bakterií. Urychluje se střevní peristaltika, takže trávenina prochází rychleji a vyprazdňování je častější. Podobně jako v tenkém střevě klesá doba, po níž jsou škodlivé látky ve styku se střevní sliznicí. To se týká zejména látek karcinogenních.

Naši prarodiče a rodiče měli ve stravě mnohem větší dávky vlákniny, protože konzumovali velkou spoustu čerstvých potravin, ve kterých se přirozeně vláknina nacházela. Výhodou takového získání vlákniny je to, že byly tělu dodávány také jiné prospěšné živiny a antioxidanty. Naši prarodiče konzumovali také mnohem více celozrnného chleba. Jak již bylo řečeno, více vlákniny znamená zkrácení doby střevní pasáže a také mnohem méně střevních onemocnění. Jakmile se bílé pečivo ve 30. a 40. letech minulého století dostalo do módy, vláknina se stala téměř zapomenutým slovem. Dokonce mnozí tvrdili, že bílé pečivo je lepší než to celozrnné. Nicméně lidé i tak měli dostatek vlákniny z jiné potravy. Teprve v 70. letech 20. století zaznamenal pojem vláknina svůj návrat. Zájem o vlákninu vyvolal především Dr. Birket z Anglie. Ten se začal zabývat studiem domorodých Afričanů, kteří netrpěli žádnými střevními chorobami ve srovnání s obyvateli západní Evropy, u nichž docházelo k nárustu těchto onemocnění. [54]

Vláknina společně s probiotickými mikroorganismy nepřímo ovlivňuje imunitní systém, chrání naše střevo před zánětlivým a nádorovým onemocněním. Zvýšenou konzumací vlákniny dále dochází ke snižování absorpce cholesterolu z potravy a tím ke snižování hladiny krevního cholesterolu.

Rozpustné složky vlákniny podléhají v tlustém střevu částečné fermentaci, při níž vznikají mastné kyseliny s krátkým řetězcem. Ty regulují kyselost v horní části tlustého střeva a tím snižují riziko vzniku nádorů. Předpokládá se, že rozpustná vláknina snižuje obsah cholesterolu tím způsobem, že po smíchání s vodou vytváří gel. Tím, jak tento gel

postupuje trávicím ústrojím, zachycuje látky, které způsobují zvýšení hladiny cholesterolu. Existují důkazy o tom, že tento proces snižuje riziko srdečních onemocnění právě snížením množství cholesterolu, který se vstřebává do krevního oběhu. Fermentované složky rovněž přispívají k růstu mikrobiální flóry v tlustém střevě a mění jeho mikroflóru ve prospěch užitečných bifidogenních bakterií, a tím příznivě ovlivňují imunitní systém. Takto mohou obnovit rovnováhu střevní mikroflóry například i po léčbě antibiotiky.

Nerozpustná vláknina urychluje průchod trávené potravy a střevní stěna je tak vystavena mnohem kratší dobu případnému působení škodlivých složek potravy a zplodin látkové výměny. Tím se snižuje vstřebávání různých látek v tlustém střevě, s čímž v mnoha případech klesá i riziko přívodu nežádoucích látek do organismu. Zároveň snižuje možnost vzniku zácpy a komplikací s ní spojených. Někdy se této části vlákniny přisuzuje rovněž hrubá mechanická čistící funkce ve střevě.

Poslední dobou se prebiotická vláknina přidává do dražších řad potravin pro děti, zvláště do sušenek a instantních kaší. Tyto prebiotické výrobky jsou obzvláště vhodné pro nekojené děti. Kojeným dětem dobrý rozvoj střevního osídlení zabezpečuje přísun mateřského mléka, které mají rády ve shodě děti i probiotické bakterie.

Existuje spousta studií, které dokazují, že probiotika mají pozitivní účinek na lidské zdraví. Zlepšují zdravotní stav u pacientů se zažívacími potížemi, pomáhají zvyšovat imunitu atd. Existují i ojedinělé názory, které jednoznačný pozitivní vliv probiotik zpochybňují. Anglický mikrobiolog Michael Wilson vyslovil pochybnosti o rostoucím množství probiotik a jejich užívání na konkrétní potíže, protože některé části obyvatel, zejména nemocní, mohou na tento způsob reagovat právě obráceně.

Velké množství různých druhů vlákniny je dnes využíváno v oboru klinické výživy jako prebiotické suplementy, s největším důrazem na využití betaglukanů, pektinů, rezistentních škrobů, glykomannanů a různých druhů oligosacharidů. Mnoho těchto prebiotik není jen prekurzorem fermentace, ale mají i jiné důležité bioaktivní vlastnosti. Pektin je například silný antioxidant, důležitý ochranný faktor mukózy (pseudomucin) a také nosič a ochrana

komenzální flóry při transportu z ústní dutiny do střeva. Rezistentní škroby (např. kukuřičný škrob) se poslední dobou ukazují jako dobrý nositel pro transport laktobacilů přes kyselé prostředí horního GIT. Je pozorována silná adherence *Bifidobacterium* spp. na škrobové granuly, což se projevuje ve zvýšeném přežívání suplementovaných škrobové granuly, což se projevuje ve zvýšeném přežívání suplementovaných probiotických bakterií. [21]

Výzkumů v oblasti adhezenčních vlastností probiotik na prebiotickou vlákninu však mnoho není. Adhezivita probiotických bakteriálních kmenů na potravní vlákninu nebyla doposud v odborné literatuře popsána. V našem experimentu byla prokázána rozdílná schopnost testované vlákniny vázat probiotické bakterie *Streptococcus saivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium longum* *in vitro*.

Bylo by vhodné, aby se dále provedly nejrůznější dietologické a klinické studie a tím se zjistila efektivita retence a transportu těchto bakterií vlákninou do distální části trávicího traktu.

ZÁVĚR

Náš zaživací trakt obsahuje velké množství různých bakterií. Z hlediska zdraví je však žádoucí, aby byl osídlen správnými bakteriemi, s převahou laktobacilů a bifidobakterií. Tyto bakterie totiž chrání organismus před patogeny, které mají negativní vliv na lidský organismus. Aplikace probiotických bakterií příznivě ovlivňuje zdravotní stav hostitele a umožňuje tak předejít některým chorobám nebo zlepšit zdravotní stav. Probiotika obnovují střevní mikroflóru po užívání antibiotik, podporují správnou funkci zaživacího systému, působí jako prevence nebo zmírnění alergických a atopických projevů u dětí, zvyšují celkovou odolnost organismu. Také upravují střevní pasáž a konzistenci stolice nebo zmírňují projevy nesnášenlivosti vůči laktóze.

V souvislosti s probiotiky se také často mluví o prebiotikách. Ty působí jako substrát pro probiotické bakterie. Prebiotikem je v podstatě nestravitelná složka stravy. Prebiotikem se rozumí zejména vláknina, která se nachází hlavně v obilovinách, ale i v zelenině a ovoci. Vláknina zvyšuje objem stolice a tím zlepšuje střevní pasáž, snižuje hladinu krevních tuků a cholesterolu. Konzumace vlákniny je zároveň dobrou prevencí proti zácpě a vzniku nádorů tlustého střeva a konečníku.

V praxi platí, že pokud je jogurt nebo jogurtové mléko obohaceno vlákninou, zlepšuje se účinek příznivě působících bakterií a naopak- vláknina (zejména rozpustná) zlepšuje výživu střevní sliznice, čímž vznikají lepší podmínky pro růst a množení vhodných mikrobiálních kultur.

Vláknina může působit jako dobrý nositel při transportu probiotických mikroorganismů přes kyselé prostředí horního GIT, což se projevuje ve zvýšeném přežívání suplementovaných probiotických bakterií.

Cílem diplomové práce bylo zjistit za pomoci metody MATH, jak moc se jednotlivé druhy potravní vlákniny dokážou navázat na vybrané druhy mikroorganismů s probiotickým účinkem. V práci bylo analyzováno 9 vzorků potravní vlákniny.

Výzkumem byla prokázána rozdílná schopnost testované vlákniny vázat probiotické bakterie *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium longum in vitro*. Jako nejvíce adhezivní ze všech 9 zkoumaných druhů vlákniny se jeví pšeničná vláknina a nejméně vláknina jablečná a vláknina z cukrové řepy. Vcelku vysokou adhezi, ale pouze vůči mikroorganismu *Streptococcus thermophilus*, vykazovala bramborová vláknina.

Probiotika a zároveň i prebiotika, mezi které můžeme zařadit vlákninu, patří v současné době k tématům, která stojí v popředí zájmu evropských vědců. Výzkum a vývoj je však ještě v samých počátcích a je potřeba ve výzkumech a klinických studiích dále pokračovat.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] http://www.buyprobiotics.net/education/ProBioticsForHealth/Probiotic_p03_Mechanisms.shtml
- [2] KVASNIČKOVÁ, Alexandra. *Sacharidy pro funkční potraviny : probiotika - prebiotika – symbiotika*, Praha : Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2000. 81 s. ISBN 807271001X.
- [3] RADA, Vojtěch. *Probiotika, prebiotika, synbiotika*, Potravinářská revue, 2008, č. 2, s.15-16.
- [4] KOHOUT, Pavel. *Význam probiotik pro zdravé zažívání*, Potravinářská revue, 2008, č. 2, s.17-18.
- [5] FOREJT, Martin. *Působení probiotik na imunitní systém organismu*, Potravinářská revue, 2008, č. 2, s. 18-19.
- [6] HOŘEJŠÍ, Jaroslav. *Probiotika a jejich role ve zdraví a nemoci*, Potravinářská revue, 2008, č. 2, s. 19-20.
- [7] KOHOUTKOVÁ, Jana. *Možnosti využití biologických agens v ochraně potravního řetězce člověka*, dostupné z: <http://www.phyotosanitary.org/projekty/2004/vvf-08-04.pdf>
- [8] FRÍČ, Přemysl. *Probiotika v terapii chorob trávicího ústrojí*, Medicína pro praxi
- [9] HRONEK, Miroslav, KUDLÁČKOVÁ, Zdeňka, NEKRINDOVÁ, Jana. *Probiotika a prebiotika v profylaxi a terapii poruch GIT a v prevenci karcinogeneze*, Medicína pro praxi, 2009, č.6, s. 66-68.
- [10] STIBŮREK, Oldřich, PŘÍBRAMSKÁ, Veronika, LATA, Jan. *Místo probiotik v léčbě (nejen) gastrointestinálních chorob*, Medicína pro praxi, 2008, č.5, s. 258-260.
- [11] LATA, Jan, JERÁNKOVÁ, Jana, PŘÍBRAMSKÁ, Veronika, OSTŘÍŽEK, Tomáš. *Probiotika v gastroenterologii a hepatologii*, Interní medicína pro praxi, 2007, č. 1, s. 7-10.
- [12] KÁŠ, Jan. *Trendy nových potravinářských výrobků zlepšujících kvalitu života*, Potravinářská revue, 2006, č. 3, s. 10-14.
- [13] FULLER, Roy. *Probiotics2, Application and practical aspects:Great Britain*, Chapman and Hall 1997. 228s. ISBN 0- 412-73610-1.
- [14] MINDELL, Earl, R.Ph,PhD. *Basec Health Publication users guide to probiotics. Learn how healthy bacteria can help you fight atd...* North Bergen:Jack Challem, 2004. 92s. ISBN: 1-39120-114-4.
- [15] TRENEV, Natasha .*Probiotics: natures internal healers*. New York : Penguin putnam Inc., 1998. 272 s. ISBN 0-89529-847-3.

- [16] DASH,S.K.Dr., SPREEN, Allan N., Dr. *Health benefits of Probiotics*. California BL Publications, 1999. 56s. ISBN: 1-890766-10-0.
- [17] GOKTEPE, Ipek, JUNEJA, Vijayk, AMMEDA, Mohamed, *Probiotics in food safety and human health* , Taylor and Francis group, 2006. 512s. ISBN 1-57444-514-6.
- [18] KREJSEK, Jan, KUDLLOVÁ, Manuela, KOLÁČKOVÁ, Martina, NOVOSAD, Jakub. *Nutrice, probiotika a imunitní systém*, Pediatrie pro praxi, 2007, č.3, s. 156-162
- [19] GAELLE QUILLIEN. *Syntetická zpráva:konzumenti (CG1)*, *Probiotika z:* http://74.125.155.132/scholarq=cache:tETtpsM_AkJ:scholar.google.com+BAKTERIE+MLÉČNÉHO+KVAŠENÍ&hl=cs&as_sdt=2000
- [20] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře*. SNTL Praha, 1983. 363s. ISBN 978-80-200-1703-1.
- [21] FARKAŠ, Anton, FRANCANOVÁ, Denisa. *Miesto prebiotík a probiotík v klinickej výžive geriatrických pacientov*.
- [22] GÖRNER, F.,VALÍK, L., *Aplikovaná mikrobiológia požívatin*, Bratislava: Malé centrum, 2004. prvné vydání, ISBN 80-967064-9-7.
- [23] SEDLÁČEK, Ivo. *Taxonomie prokaryot*, 1. vyd. Brno : Masarykova univerzita, 2007. 270 s. ISBN 80-210-4207-9.
- [24] http://www.sukl.cz/_download/spc/SPC64864.doc
- [25] ZBOŘIL, Vladimír. *Probiotika u idiopatických střevních zánětů*. In: Kohout P. a kol., *Výživa u pacientů s idiopatickými střevními záněty*, 149–157. Maxdorf, Praha. 2004.
- [26] SCHLEIFER, K.H., KILPPER-BALTZ, R. *Transfer of Streptococcus faecalis and Streptococcus faecium to the Genus Enterococcus nom. rev. as Enterococcus faecalis comb. nov. and Enterococcus faecium comb. nov.* *Int. J. Syst. Bacteriol.* 34: 31-34.1984.
- [27] NEVORAL, Jiří. *Probiotika a jejich praktické využití*, dostupné z: <http://www.zdn.cz/clanek/postgradualni-medicina/probiotika-a-jejich-prakticke-uziti-412180>
- [28] <http://www.actimel.cz/3-page-imunitni-system-cloveka>
- [29] VÉGH, Vladimír, VÉGH, Tereza. *Imunomodulace a samoléčba z pohledu lékárníka*, dostupné z: <http://www.zdn.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/imunomodulace-a-samolecba-z-pohledu-lekarnika-447482>
- [30] <http://www.vupp.cz/czvupp/publik/06poster/06mbVlakninaPresentace.pdf>
- [31] ZBOŘIL, Vladimír. *Mikroflóra trávicího traktu klinické souvislosti*. Praha: Grada publishing, a.s., 2005. 153 s. ISBN 80-247-0584-2.
- [32] KOVÁČIKOVÁ, E., VOJTAŠŠÁKOVÁ, A., MOSNÁČKOVÁ, J., PASTOROVÁ,

- J., HOLČÍKOVÁ, K., SIMONOVÁ, E., KOŠICKÁ, M. *Vláknina v potravinách*. 1.vyd. Bratislava: Výzkumný ústav potravinásky, 2003. 30 s. ISBN 80–89088–27–9.
- [33] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 1*. Tábor: Osis, 1999. ISBN 80-902391-3-7.
- [34] JOHNSON, Ian T., SOUTHGATE, David A.T. *Dietary Fibre and Related Substances*. Chapman and Hall, 1994. 132 s. ISBN 0-412-48470-6.
- [35] SPILLER, Gene A. *CRC Handbook of Dietary Fiber in Human Nutrition*. CRC Press LLC, 2001. ISBN 0-8493-2387-8.
- [36] http://www.viscojis.cz/1/index.php?option=com_content&view=article&id=122:102&catid=47:co-nae-tlo-potebuje&Itemid=79
- [37] STARNOVSKÁ, Tamara. *Vláknina v jídelníčku*. Dostupné z: <http://www.fzv.cz/web/fzv-poskytuje/tiskove-meterialy/vlak/ts>
- [38] WILHELM, Z. *Výživa v onkologii*. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 2001. 191 s. ISBN 80-7013-326-0.
- [39] <http://www.culinar.se/culinar/templates/Article.aspx?id=646&epslanguage=CZ>
- [40] MOŘKOVSKÁ, T. *Vláknina, její vlastnosti a využití do masných výrobků*. [Diplomová práce] Zlín: FT UTB, 2009, 63 s.
- [41] BODER, Jon M., SIEG, Jürgen, *Fiber*, Chapter 4, 81-91 s.
- [42] SIMAL, S. at al.: *Effects of addition of carrot dietary fibre on the ripening process of a dry fermented sausage*. Meat science, 2008. 173-172.
- [43] Rolf Bos, Henny C. Van der Mei, Henk J. Busscher (1999) *Physico-chemistry of initial microbial adhesive Interactions its mechanisms and methods for study*, FEMS Microbiology Reviews 23, 179-230.
- [44] COWMAN, R.A., FITZGERALD, R.J., PERRELLA, M.M., CORNEL, A.H.: *Human saliva as a nitrogen source for oral streptococci*, Caries Research 11, 1977.
- [45] http://www.erc.montana.edu/res-lib99-sw/pubs/Theses/1995/Thesis95_Schmidt.htm
- [46] ROSENBERG, M., 2006: *Microbial adhesion to hydrocarbons: twenty-five years of doing MATH*. FEMS Microbial. Lett. 262: 129-164.
- [47] TANNOCK, Gerald W. *Probiotics and prebiotics: where are we going?*. England : Causter Academic Press, 2002. 336 s. ISBN 0-9542464-1-1.
- [48] BRONSKÝ, Jiří. *Využití probiotik v pediatrii*. Dostupné z: <http://www.zdn.cz/denni-zpravy/profesni-aktuality/vyuziti-probiotik-v-pediatrii-362560>
- [49] PÍTHA, Jan, POLEDNE, Rudolf. *Zdravá výživa pro každý den* Grada Publishing, Praha, 2009, 144s. ISBN 978-80-247-2488-1.
- [50] URBÁNEK, Libor, URBÁNKOVÁ, Pavla a kolektiv autorů, *Klinická výživa v*

současné praxi, Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, Vinařská 6, 603 00 Brno, 104s., ISBN 978-80-7013-473-3.

[51] ZLATOHLÁVEK, Lukáš. *Vláknina, její zdroje a vlivy na lidský organismus*-III.interní klinika VFN a 1.LF UK Praha, www.kardiologickéforum.cz,

[52] NEVORAL, Jiří. *Prebiotika, probiotika a synbiotika* *Pediatric pro praxi* 2/2005

[53] <http://www.lekarna.cz/harmony-line-enterococcus-forte-selen-tob-30/>

[54] <http://www.zdravastreva.cz/page/68151.historie-vlakniny-ve-20-stoleti/>

[55] ROSENBERG, M., ROSENBERG, E., JUDES, H., WEISS, E. *Bacterial adherence to hydrocarbons and to surfaces in the oral cavity*. *FEMS Microbiol. Lett.* 20, 1983, s. 1-5.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CCDM..... Czech Collection of Dairy Cultures

IDF..... International Dairy Federation

ISAPP..... International Association for Probiotics and Prebiotics

GIT..... Gastrointestinální trakt

MATH..... Microbial Adhesion To Hydrocarbons

MZe..... Ministerstvo zemědělství

PBS..... Phosphate buffered saline

subsp. subspecies

VVP..... Vědecký výbor pro potraviny

VVZP..... Vědecký výbor pro výživu zvířat

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subs. <i>bulgaricus</i>	19
Obr. 2: <i>Lactobacillus salivarius</i>	19
Obr. 3: <i>Bifidobacterium bifidum</i>	20
Obr. 4: <i>Streptococcus salivarius</i> subs. <i>thermophilus</i>	22
Obr. 5: <i>Streptococcus lactis</i>	22
Obr. 6: <i>Escherichia coli</i>	23
Obr. 7: Adherence probiotických bakterií na potravní vlákninu (%).....	51

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Nejdůležitější výhody a nevýhody probiotik, prebiotik a symbiotik [2].....	17
Tab. 2. Vlastnosti jednotlivých druhů vlákniny [41].....	37
Tab. 3. Adherence <i>Bifidobacterium longum</i> na vlákninu.....	47
Tab. 4. Adherence <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> na vlákninu.....	48
Tab. 5. Adherence <i>Lactobacillus acidophilus</i> na vlákninu.....	49
Tab. 6. Retenční úbytek koncentrace bakterií v supernatantu po usazení vlákniny (%).....	51