

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta chemická

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Brno, 2017

Bc. Klára Vajglová



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**VLIV RŮZNÝCH POTRAVIN NA VIABILITU A RŮST
PROBIOTICKÝCH BAKTERIÍ**

INFLUENCE OF SOME FOODS ON GROWTH AND VIABILITY OF PROBOTIC BACTERIA

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Klára Vajglová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.

BRNO 2017

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1071/2016
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Bc. Klára Vajglová**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vedoucí práce: **prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.**
Akademický rok: 2016/17

Název diplomové práce:

Vliv různých potravin na viabilitu a růst probiotických bakterií

Zadání diplomové práce:

V rámci práce budou řešeny následující dílčí úkoly:

1. Rešerše zaměřená na probiotika a jejich metabolismus
2. Optimalizace metod kultivace a stanovení viability vybraných probiotických kmenů
3. Výběr sestavy běžných potravin a inkubace probiotik v prostředí vybraných potravin
4. Hodnocení růstu a viability probiotik v přítomnosti vybraných potravin, výživová doporučení

Termín odevzdání diplomové práce: 5.5.2017

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Klára Vajglová
student(ka)

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2017

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

Abstrakt

Cílem a zaměřením této práce bylo studium vlivu potravin a nápojů na viabilitu a růst probiotických bakterií. Vliv potravin a nápojů byl testován na monokulturách *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium breve* a na směsné kultuře probiotických mikroorganismů.

V experimentální části pak byly probiotické kultury inkubovány ve vybraných potravinách a nápojích. Následně pak byly podrobeny vlivům simulovaného trávicího traktu. U některých probiotických kultur docházelo i během inkubace v trávicím traktu k nárůstu viabilních buněk. Nárůst buněk vykazovaly potraviny, které obsahovaly vyšší obsah cukrů a tuků nebo jejich vhodnou kombinaci. Jejich nárůst byl v některých případech až čtyřnásobný.

Na základě výsledků je možné říci, že směsné probiotické kultury mají lepší předpoklady pro udržení dostatečného množství viabilních buněk i během trávicího procesu a že probiotické mikroorganismy je lepší konzumovat během jídla než je jen s nápojem.

Klíčová slova: probiotické bakterie, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium breve*, potravinářství, GIT

Abstract

The goal of this work was a study the influence of food and beverages on the viability and growth of probiotic bacteria. The influence of food and beverages was tested on monocultures of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium breve* and mixed culture of probiotic microorganisms.

In the experimental part, probiotic cultures were incubated in selected foods and beverages. After that they were tested in a model conditions of digestive tract. In some probiotic cultures, growth of viable cells during incubation in the digestive tract was observed. The increase of probiotic cells was showed predominantly in foods that contained higher levels of sugars and fats or a suitable combination. Their increase was up to four times in some cases.

Based on the results, mixed probiotic cultures aren't surprisingly exhibited better survival and maintain sufficient amount of viable cells even during the digestive process. Moreover, probiotic microorganisms could be recommended to consumption during meals better than just with a beverage.

Keywords: probiotic bacteria, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium breve*, food industry, GIT

VAJGLOVÁ, K. *Vliv různých potravin na viabilitu a růst probiotických bakterií*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 58 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování

Ráda bych poděkovala vedoucí své diplomové práce prof. RNDr. Ivaně Márové, CSc. za možnost pracovat v jejím týmu a za podporu během měření diplomové práce i během studia. Dále bych pak chtěla poděkovat Ing. Petře Matouškové, Ph.D. za cenné rady a podporu při práci na experimentální části.

Obsah

1	ÚVOD	10
2	TEORETICKÁ ČÁST	11
2.1	Gastrointestinální trakt (GIT)	11
2.1.1	Stavba a funkce gastrointestinálního traktu	11
2.1.2	Transport a zpracování potravy.....	12
2.1.2.1	Metabolismus potravin	13
2.1.2.1.1	Sacharidy	15
2.1.2.1.2	Proteiny.....	15
2.1.2.1.3	Tuky.....	16
2.1.3	Mikrobiologie gastrointestinálního traktu.....	16
2.1.3.1	Analýza střevní mikroflóry.....	18
2.1.3.2	Vývoj gastrointestinální mikroflóry	19
2.1.3.3	Funkce gastrointestinální mikroflóry.....	19
2.2	Probiotické mikroorganismy	20
2.2.1	Rod Lactobacillus	21
2.2.2	Rod Bifidobacterium.....	21
2.2.3	Mechanismus účinku probiotických mikroorganismů	22
2.2.4	Vliv matrice potravin a nápojů na životaschopnost probiotických bakterií.....	24
3	CÍLE PRÁCE	25
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	26
4.1	Použité chemikálie.....	26
4.2	Použité pomůcky a přístroje	26
4.3	Použité probiotické kmeny bakterií	26
4.4	Kultivace probiotik	26
4.4.1	Příprava probiotik pro stanovení viability.....	27
4.5	Vybrané potraviny a nápoje k testování	27
4.5.1	Příprava potravin k testování	27
4.6	Modelové trávicí šťávy	27
4.6.1	Příprava žaludeční šťávy	28
4.6.2	Příprava pankreatické šťávy.....	28
4.6.3	Příprava žlučové šťávy	28

4.7	Testování viability a růstů probiotik v potravinách.....	28
4.7.1	Testování viability v nápojích pomocí cytometru.....	28
4.7.2	Testování viability v nápojích pomocí kultivační metody.....	28
4.7.3	Testování viability v potravinách pomocí kultivační metody.....	28
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	29
5.1	Nápoje.....	29
5.1.1	Charakterizace nápojů.....	29
5.1.2	Stanovení viability pomocí kultivačních metod.....	30
5.1.2.1	Viabilita rodu Lactobacilus.....	30
5.1.2.2	Viabilita rodu Bifidobacterium.....	31
5.1.2.3	Viabilita komerční směsi	32
5.1.3	Stanovení viability probiotik v nápojích pomocí průtokového cytometru.....	33
5.2	Potraviny.....	35
5.2.1	Charakterizace potravin	35
5.2.2	Stanovení viability probiotických kultur v potravinách pomocí kultivační metody	36
5.2.2.1	Polévky	36
5.2.2.1.1	Viabilita rodu Lactobacilus	36
5.2.2.1.2	Viabilita rodu Bifidobacter	37
5.2.2.1.3	Viabilita komerční směsi	37
5.2.2.2	Hlavníchody.....	38
5.2.2.2.1	Viabilita rodu Lactobacilus	38
5.2.2.2.2	Viabilita rodu Bifidobacterium.....	39
5.2.2.2.3	Viabilita komerční směsi	40
5.2.2.3	Pochutiny	41
5.2.2.3.1	Viabilita rodu Lactobacilus	41
5.2.2.3.2	Viabilita rodu Bifidobacterium.....	42
5.2.2.3.3	Viabilita komerční směsi probiotik.....	44
6	ZÁVĚR.....	47
7	ZDROJE	49
8	SEZNAM PŘÍLOH.....	54
	Příloha 1: Charakterizace vybraných nápojů a potravin	54
	Příloha 2: Galerie použitých nápojů a potravin.....	58

1 Úvod

Vliv mikrobiomu gastrointestinálního traktu na zdravotní stav lidské populace je v dnešní době intenzivně zkoumané téma. Mikrobiom lidského střeva je velmi rozmanitý, složitý a obsahuje jak příznivě působící mikroorganismy, tak i mikroorganismy potencionálně patogenní. Mezi mikroorganismy vyskytujícími se v gastrointestinálním traktu existuje symbióza a musí se mezi nimi udržovat rovnováha, aby nedocházelo k vyššímu výskytu a kolonizaci střev patogenními organismy. V dnešní době se rozvíjejí techniky, které důkladněji a rychleji zkoumají složení mikrobiomu střev a srovnávají zastoupení mikroorganismů u zdravých a nemocných jedinců, aby bylo možné určité nemoci léčit, případně jim předcházet.

Potvrzené pozitivní účinky na udržení rovnováhy střevní mikroflóry mají probiotické bakterie. Probiotika byla definována Světovou zdravotnickou organizací (WHO) jako živé mikroorganismy osídlující přirozeně gastrointestinální trakt. Pokud je jejich příjem dostatečný, mají významný vliv na funkci trávicího traktu a také jsou důležité při prevenci jeho onemocnění.

Probiotické bakterie můžeme přijímat ve formě funkční potraviny. Funkční potraviny tvoří nejčastěji skupina fermentovaných mléčných výrobků (jogurty, sýry a zmrzlina). Dalším zdrojem probiotických bakterií jsou kapsle s lyofilizovaným nebo sušeným obsahem, který je doplněn ještě o složku prebiotik. Probiotika mají nejen pozitivní vliv na gastrointestinální systém, ale také se díky jejich produkci kyseliny mléčné a dalších organických kyselin, vitamínů a antimikrobiálních látek (např. u *L. casei*) mohou využít pro prodloužení doby trvanlivosti potraviny.

Nejčastěji využívané prokaryotické probiotické mikroorganismy jsou zástupci rodu *Lactobacillus* a *Bifidobacterium*. Už jsou známy také probiotické účinky eukaryotických mikroorganismů, jejichž nejznámější zástupci jsou *Saccharomyces cerevisiae* a *Saccharomyces cerevisiae* var. *bulardii*.

Tato diplomová práce je zaměřena na vliv různých potravin a nápojů na viabilitu a růst probiotických druhů *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium breve*. Potraviny a nápoje byly vybrány tak, aby byl pokryt co nejširší sortiment typů výrobků na trhu. Mezi vybranými nápoji byla například káva, čaj, pivo, mléko, džus, limonáda a voda. Mezi vybranými testovanými potravinami byly zástupci polévek, hamburger, ovoce, zelenina, chipsy, nugeta, makovec a mnoho dalších.

Testování–jiných potravinových matric, ve kterých dokáží probiotické mikroorganismy přežít a současně se liší od fermentovaných mléčných výrobků je velmi frekventované téma. Hlavním důvodem je skutečnost, že řada lidí má alergii nebo intoleranci na mléčné výrobky. Dalším faktorem jsou odlišné stravovací zvyklosti určitých skupin populace - př. vegani , kteří nekonzumují žádné živočišné produkty. Jako matrice se testují ovocné a zeleninové šťávy, cereální výrobky, maso, ryby a dokonce i čokoláda, která se jeví jako velmi slibný materiál. V případě ovocných a zeleninových šťáv se diskutuje o kombinaci s fermentovanými mléčnými produkty, protože tato kombinace má potenciál nejen jako pozitivní nosič probiotických bakterií, ale také přítomnost šťáv může zlepšit organoleptické vlastnosti potraviny.

2 Teoretická část

2.1 Gastrointestinální trakt (GIT)

Trávicí systém zajišťuje příjem a zpracování potravin, které nám slouží jako zdroj vody, minerálních látek, živin a vitamínů. Dochází zde k mechanickému a chemickému zpracování potravin a její následnému vstřebání [1].

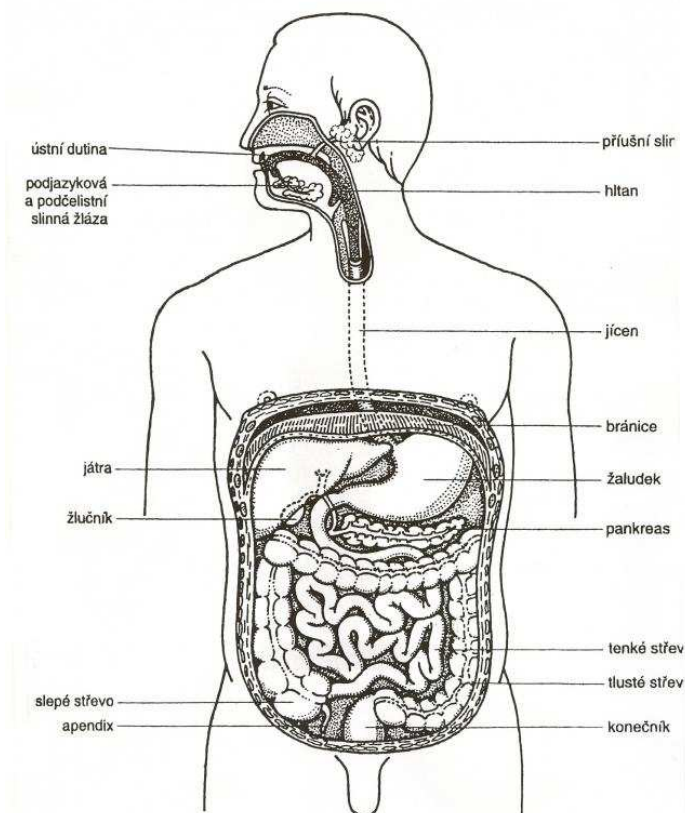
Důležitým úkolem trávicího systému je také chemická, mechanická a imunologická ochrana proti bakteriálním infekcím, účinkům toxických látek i proti účinkům vlastních enzymů [2].

GIT je řízena vlastním a autonomním (sympatikus a parasympatikus) nervovým systémem, humorálně a přímým mechanickým a chemickým působením obsahu v GIT [1].

2.1.1 Stavba a funkce gastrointestinálního traktu

Gastrointestinální trakt je složen z dutiny ústní, hltanu, jícnu, žaludku, jater, slinivky břišní, žlučových cest, tenkého střeva (dvanáctník, lačník, kyčelník), tlustého střeva (slepého střeva a červovitého výběžku, vzestupného, příčného a sestupného tračníku, esovité kličky) a rekta.

Všechny orgány podílející se na tomto procesu jsou děleny do tří hlavních úseků. Horní úsek tvoří ústa, jícen a žaludek, kde se potrava vlivem mechanického rozmělnění a účinkem enzymů ve slinách a žaludečních šťávách mění v tráveninu – chymus. Střední úsek GIT je tvořen tenkým střevem, kde dochází k největšímu vstřebávání živin. Pro správnou funkci tenkého střeva je důležitá sekrece jater a slinivky břišní. Zbývající chymus postupuje do dolního oddílu, tedy do tlustého střeva. V tlustém střevě dochází k zahušťování a vystavení obsahu bakteriím. Trávenina se mění ve stolici a je vyloučena z těla ven [1], [3].



Obrázek 1: Orgány trávicí soustavy [4].

2.1.2 Transport a zpracování potravin

Trávení potravin začíná v dutině ústní, kde je smíchána se slinami a probíhají zde dva hlavní procesy - proces žvýkání a polykání [2].

Sekrece slin probíhá v ústech kontinuálně (0,5 ml/min). Při stimulaci může tvorba slin stoupnout na 4 - 7 ml/min. Velikost objemu slin závisí na typu podnětu. Vůně, chuť potravin, žvýkání, mechanické dotyky ústní sliznice sekreci slin podporují, ale únava nebo dehydratace ji inhibují. Sliny jsou tvořeny z 99,4 % vodou, dále pak elektrolyty jako jsou HCO_3^- , I^- , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} a fosfáty, organickými látkami. Mezi organické látky se řadí mucin, α -amyláza (dříve ptyalin), jazyková lipáza, lyzoly, imunoglobulin A a laktoferin. V průměru se vytvoří denně asi 1,5 - 2 l slin. Sliny jsou uzpůsobeny tak aby během přijímání potravy oplachovaly chuťové receptory, proto jsou hypotonické (obsahují malé množství NaCl) a jejich pH je neutrální [1].

Při žvýkání dochází k rozmělnění potravy na menší částičky. Rozmělnění potravin je důležité z toho hlediska, že enzymy účinkují pouze na povrchu potravin a žvýkáním se povrch pro jejich účinek zvětší. Polykání je proces, při kterém dochází k posunutí sousta o hmotnosti cca. 5 g / 5 ml do jícnu a následnou peristaltickou vlnou do žaludku.

Žaludek je rozšířená část trávicí soustavy, kde se potravin hromadí a dále se pak částečně zpracovává. Potrava v žaludku zůstává až do vzniku suspence o velikosti částic menších než 1 mm nazývané chymus. Obsah žaludku ho opouští v závislosti na složení. Voda setrvává v žaludku 10 - 20 minut. Setrvání pevné potravin se zvyšuje na 1 - 4 hodiny. Obecně platí, že nejdelší dobu v žaludku setrvávají tuky, pak proteiny a nejkratší dobu sacharidy [3], [5].

Žaludeční šťáva se tvoří reflexně na základě přijetí potravy. Podporují je ale také zrakové, čichové a chuťové podněty. Denně se vyprodukuje 2,5 - 4 litry žaludeční šťávy. Žaludeční šťáva je složena z HCl, pepsinogenu, lipázy, HCO_3^- , gastrinu, somatostatinu, histaminu. Enzymy jsou sekretovány hlavními buňkami žaludku ve formě neaktivních proenzymů. Díky přítomnosti kyseliny chlorovodíkové dochází k přeměně neaktivního pepsinogenu na jeho aktivní formu pepsin. Kyselina chlorovodíková má řadu dalších významných funkcí, např. kyselé prostředí chrání vitamin C, má antibakteriální účinek, koaguluje bílkoviny, redukuje železo na jeho vstřebatelnou formu Fe^{2+} [1].

Žaludeční šťáva má pH nejčastěji okolo 1. Po přijetí potravin se pH šťávy zvyšuje na přibližně 1,8 - 4, což je optimální pro působení pepsinu. Žaludeční sekrece je řízena reflexně. Reflexy jsou buďto nepodmíněné (čichové, chuťové) nebo podmíněné (zrakové vjemy, čas, představa jídla). Ze žaludku se natrávená potravin - chymus přesouvá do tenkého střeva, kde dochází k dokončení trávení a vstřebávání produktů [1], [5].

Tenké střevo je dlouhé 3 - 3,5 m a je pokryto klky, které zvětšují povrch střev a tím usnadňují vstřebávání živin. Můžeme ho také rozdělit na 3 části - dvanáctník, lačník a kyčelník. Ve dvanáctníku má vývod slinivka břišní a játra. Slinivka břišní produkuje pankreatické šťávy. Nejdůležitější složkou pankreatické šťávy je HCO_3^- . Hydrogenuhličitanové ionty neutralizují chymus ze žaludku. Důležité je to hlavně kvůli pankreatickým enzymům, jako jsou endopeptidázy, z nichž nejznámější je trypsin, dále exopeptidázy, α -amyláza, lipolytické enzymy, enzymy štěpící nukleové kyseliny atd. Optimální pH pro jejich funkci je $\text{pH} = 7 - 8$. Při nedostatečné tvorbě HCO_3^- je chymus moc kyselý a nedojde k úplnému natrávení potravy. Všechny pankreatické enzymy jsou produkovány v neaktivní formě, k aktivaci dochází až v lumen tenkého střeva pomocí endopeptidázy. Kdyby byly enzymy aktivovány již ve slinivce, způsobily by její akutní nekrózu. Nejprve dochází k aktivaci trypsinu z jeho neaktivní formy trypsinogenu. Aktivaci katalyzuje endopeptidáza. Aktivní trypsin pak aktivuje další proteázy a lipázy [2], [5].

Další žlázou, která má vývod do dvanáctníku, jsou játra. Ta produkují žluč, která je důležitá hlavně pro trávení a následnou absorpci tuků. Žluč je komplexní směs složená z vody, elektrolytů, solí žlučových kyselin, cholesterolu, lecitinu, bilirubinu, steroidních hormonů,

vitaminů, exogenně podaných látek, těžkých kovů a aj. Produkce žluči je denně asi 0,7 – 1,2 l. Žluč společně s pankreatickou šťávou vyrovnává pH a osmotický tlak v dvanáctníku. Veškerá produkce žluči není uvolněna do dvanáctníku asi z 50% je zahušťována ve žlučníku. Nejdůležitější složkou jsou soli žlučových kyselin, které jsou nezbytné pro trávení tuků, zbytek složek žluči je vyloučeno ven z těla spolu se stolicí [2], [5]

V tenkém střevě jsou ještě produkovány střevní šťávy. Tyto šťávy se skládají z chloridů, uhličitanu sodného, mucinu, směsi proteolytických enzymů, nukleáz, sacharázy, maltázy, laktázy, střevní lipázy a střevní peptidázy. V různých částech tenkého střeva je intenzita tvorby šťávy v rozmezí 1,5 – 2,6 l/den [1], [5]

Potravina ochuzená o resorbované živiny pokračuje do tlustého střeva. Buňky tlustého střeva produkují alkalický sekret, který je složen z vody, elektrolytů a hleny, ale nejsou zde produkovány žádné enzymy. Nejdůležitější sekret je HCO_3^- , ten neutralizuje kyselé produkty kvasných a hnilobných bakterií. Tlusté střevo má čtyři základní funkce: resorbuje vodu a elektrolyty, skladuje se v něm střevní obsah, produkuje vitamin K a tvoří a formuje se zde stolice.

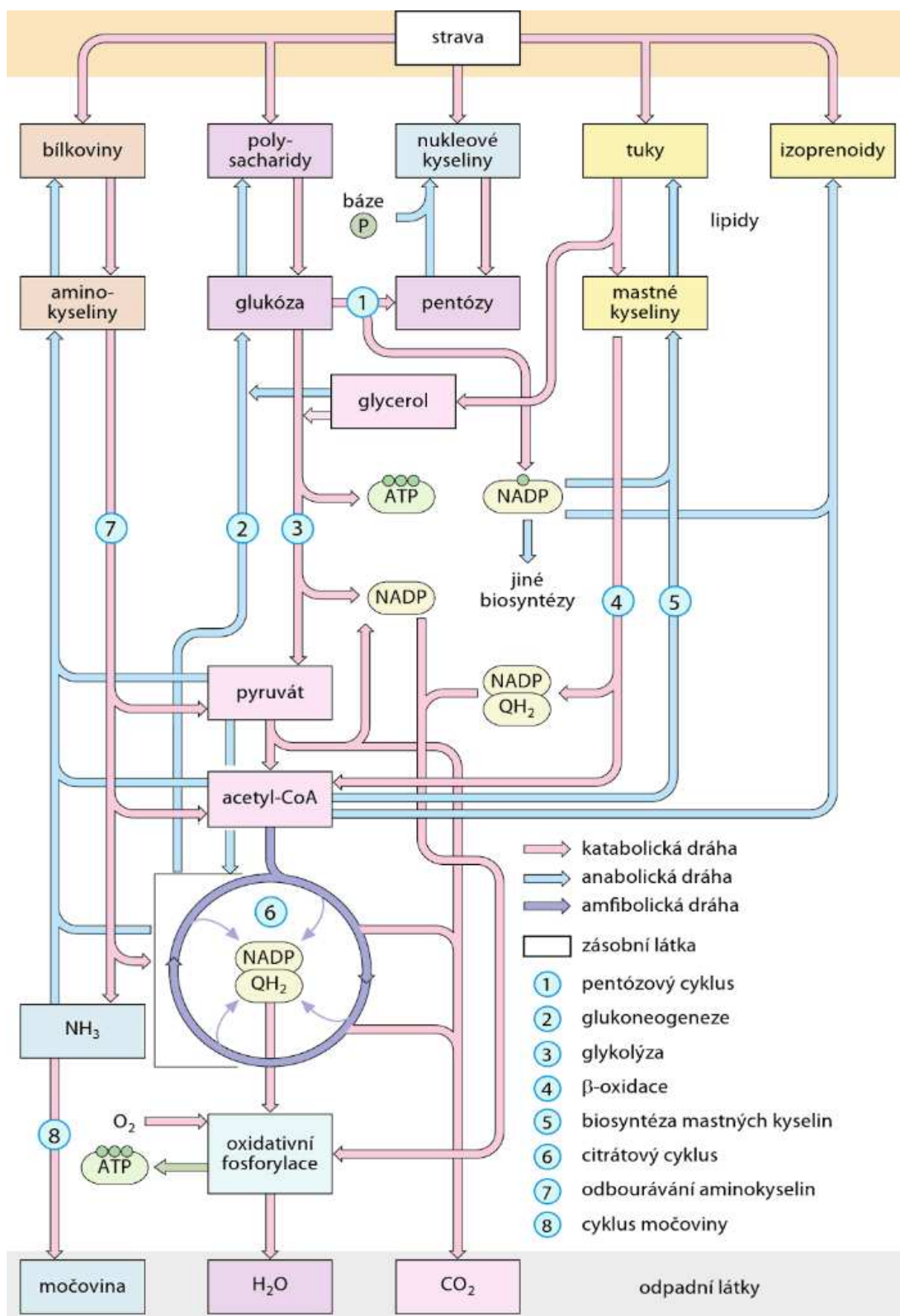
Ve střevech je také důležitá produkce hlenu, který chrání sliznici tenkého před působením střevního obsahu a produktů střevních bakterií, pomáhá posouvat zahuštěné zbytky potravy a formovat stolicí [5].

2.1.2.1 Metabolismus potravin

Jednotlivé živiny – sacharidy, bílkoviny, tuky, nukleové kyseliny, jsou do těla přijímány jako složité organické látky, které je nutné rozštěpit pomocí hydrolýzy na základní stavební jednotky, aby je tělo mohlo využít jako stavební materiál a zdroj energie. Energetické nároky jsou hrazeny hlavně metabolismem cukrů a tuků. Tyto živiny se jako zdroj energie mohou do značné míry zastoupit.

Monomery vzniklé trávením dokáže trávicí systém resorbovat přes stěnu tenkého střeva do krve nebo lymfy. Nejlepší resorpce probíhá, když jsou látky ve stavu rozpustném ve vodě. Resorbované metabolity se štěpí pomocí katabolických drah intermediárního metabolismu znázorněných na obrázku 2 [5], [6].

Pro správné fungování organismu je také důležitá resorpce vody, vitaminů, minerálních látek a stopových prvků [5], [6].



Obrázek 2: Dráhy intermediárního lidského metabolismu [6].

2.1.2.1.1 Sacharidy

Sacharidy přijímáme v potravě hlavně ve formě polysacharidů. V potravinách se ale také vyskytují disacharidy a monosacharidy. Z disacharidů přijímáme nejvíce řepný a mléčný cukr, a z monosacharidů pak glukózu a fruktózu. Nejvíce přijatých sacharidů, až polovinu, tvoří škrob [6].

Štěpení škrobu začíná již v ústech, kde se pomocí α -amylázy škrob štěpí na oligosacharidy. Proces trávení sacharidů je přerušen v proximální části žaludku, protože dojde k okyselení tráveniny a enzym při kyselém pH nepracuje. Trávení je poté znovu obnoveno ve dvanáctníku, protože pankreatická šťáva neutralizuje chymus vycházející ze žaludku. A v pankreatické šťávě je také obsažena pankreatická α -amyláza. Vzniklé oligosacharidy (maltóza, maltotrióza, a limitní dextrin), ale tělo nedokáže resorbovat, proto musí být dále hydrolyzovány pomocí enzymů obsažených v kartáčovém lemu enterocytů ve střevech na monosacharidy, které jsou pak pomocí těchto enterocytů resorbovány.

Glukóza s galaktózou jsou resorbovány nejvíce ve dvanáctníku a lačníku pomocí sekundárně aktivního ko-transportu Na^+ iontů. Fruktóza je vstřebávána pomocí jednosměrného přenašeče GLUT5 [1], [5].

U metabolismu sacharidů je důležitým bodem přeměna glukózy na její fosforylovaný ester, glukóza-6-fosfát. Fosforylace probíhá v cytoplasmě, kde je také cukr zadržen, protože plazmatická membrána nemá žádný transportér pro fosforylované monosacharidy. Další osud glukóza-6-fosfátu je závislý na potřebách orgánů a buněk [6].

Nestravitelné části rostlinných sacharidů, celulóza, hemicelulóza a pektin nemají nutriční význam, ale jsou součástí vlákniny. Vláknina má velmi dobrý vliv na motilitu tenkého a tlustého střeva. Zvyšuje objem střevního obsahu, slouží jako prevence proti zácpě a hemoroidům [1].

2.1.2.1.2 Proteiny

Bílkoviny jsou nejvýznamnější makromolekuly v těle. Člověk, vážící 70 kg, má v těle 10 kg bílkovin, jejichž většina je uložena ve svalech. Podíl ostatních dusíkatých látek ve srovnání s bílkovinami je zanedbatelný [6].

Zpracování proteinů začíná v žaludku, kdy pomocí pepsinu se bílkovinné řetězce štěpí v místech, kde jsou obsaženy aminokyseliny tyrozin nebo fenylalanin. Vznikají polypeptidy, které přechází do střev. Při přechodu do dvanáctníku, kde dochází k mísení s alkalickou pankreatickou šťávou, se účinek pepsinu zastaví. V pankreatické šťávě jsou také přítomné proteolytické enzymy, trypsin, chymotrypsin a elastáza, které pokračují v trávení polypeptidů a štěpí jejich vnitřní polypeptidovou vazbu. Vznikají kratší peptidy a ty jsou dále štěpeny, buď ve střevním lumeně nebo v kartáčovém lemu střev, na tri- a dipeptidy, ale hlavně na jednotlivé aminokyseliny [1], [5].

Di- a tripeptidy jsou ve dvanáctníku a lačníku absorbovány pomocí symportního nosiče, který pohání gradient H^+ iontů. Di- a tripeptidy se pak intracelulárně štěpí pomocí cytoplazmatických enzymů na volné aminokyseliny. Resorpce di- a tripeptidů probíhá rychleji. Samotné aminokyseliny jsou resorbovány pomocí několika specifických nosičů, které pracují v závislosti na ko-transportu s Na^+ [1], [5], [6].

Metabolismus bílkovin zahrnuje dvě oblasti, tvorbu a odbourání samotných bílkovin a degradaci a syntézu proteogenních aminokyselin. Člověk denně odbourá asi 300 - 400 g bílkovin na aminokyseliny, ale přibližně stejné množství si zase zpátky zabuduje. Protože je životnost bílkovin v organismu člověka krátká, asi 2 – 8 dní, tak dochází k neustálému odbourávání a tvorbě nových bílkovin. Zvlášť důležité je to pro aktivitu enzymů intermediárního metabolismu [6].

2.1.2.1.3 Tuky

V potravě tuky přijímáme převážně jako triacylglyceroly, dále pak ve formě fosfolipidů a jako estery cholesterolu. Denní příjem tuků je individuální a pohybuje se průměrně v rozmezí 60 – 100 g/den. Lipidy jsou špatně rozpustné ve vodě a pro vstřebávání ve vodním prostředí trávicího systému je potřeba zvláštních mechanismů [5].

Trávení tuků se uskutečňuje pomocí lipáz. Tyto enzymy se tvoří již v ústech v Ebnerových žlázách kořene jazyka, dále pak v hlavních buňkách žaludku a jsou přítomny také v pankreatických šťávách [5].

Trávení tuků v ústech a žaludku má u zdravých jedinců zanedbatelný význam. Lingvální a gastrická lipáza nemá kvůli kyselému pH optimální podmínky pro působení [7]. Většina tuků je proto trávena v neutrálním prostředí dvanáctníku a kyčelníku pankreatickou lipázou. Pro dobré štěpení tuků je nezbytná jejich emulgace. Emulgací vzniká emulze, která nabízí větší povrch pro působení lipáz. V žaludku se tuky emulgují pomocí motility distálního žaludku. Na emulgaci ve střevech se podílejí žlučové soli a lecitin. Trávením triacylglycerolů vznikají mono-, diacylglyceroly, glycerol a mastné kyseliny. Produkty trávení jsou pomocí žlučových solí přeměněny na micely. Díky své velikosti micely mohou lépe dostat mezi mikrokilky sliznice a proto jsou nezbytnou podmínkou pro absorpci tuků. Cholesterol a vitamíny rozpustné v tucích jsou uzavřeny uvnitř micel, aby mohly být transportovány přes střevní sliznici pasivním dějem [1].

Většina tuků se vstřebává ve dvanáctníku a nejpозději však na konci kyčelníku. Žlučové soli uvolněné z micel se vstřebávají v tračnicku a jsou portálním oběhem přiváděny do jater a spolu s novými žlučovými kyselinami jsou vyloučeny do žluče. [5]

2.1.3 Mikrobiologie gastrointestinálního traktu

Mikrobiologii trávicího traktu musíme brát jako komplexní systém. Jedná se o mikrobiologický ekosystém, ve kterém se nachází více než 500 různých druhů aerobních i anaerobních mikroorganismů. Jejich zastoupení je v různých částech trávicího systému odlišné, a jejich počet se zvyšuje od tenkého střeva, kde je mikrobiální populace 10^9 CFU/g až ke střevu tlustému kde je tato populace 10^{12} CFU/g. Celkový počet mikroorganismů vyskytujících se v celém trávicím systému je 10^{14} CFU/g. Nejvíce zastoupené druhy mikroorganismů jsou uvedeny v tabulce 1 [8], [9].

Nejpočetněji jsou zastoupeny rody *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Peptococcus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillaceae* a *Escherichia coli*. Mikroorganismy - bakterie, kvasinky i viry v trávicím systému žijí v jakémsi symbiotickém vztahu a vzájemně spolu spolupracují, aby byla zajištěna správná funkce systému [8], [10], [11].

Protože gastrointestinální systém neosídluje pouze člověku prospěšné mikroorganismy, ale také potencionálně patogenní nebo patogenní mikroorganismy, je potřeba udržovat všechny přítomné mikroorganismy v kvantitativní a kvalitativní rovnováze. Pokud dojde k porušení této rovnováhy a začnou převažovat patogenní mikroorganismy, dojde k tvorbě zánětu, infekci, alergické reakci ale také může dojít i k rakovinnému bujení. Na regulaci stability a složení ekosystému se také podílí lysozymy ve slinách, pH žaludečních kyselin, teplota, peristaltika střev, žlučové kyseliny, imunitní systém jedince, léky a vztahy vzájemné mezi mikroorganismy [12], [13].

Tabulka 1: Druhové zastoupení mikroflóry trávicího traktu [9], [12].

	žaludek a dvanáctník	lačník	kyčelník	tračník
Kvantitativní rozložení (celkové množství MO)	$10 - 10^3$	$0 - 10^2$	$10^3 - 10^9$	$10^{10} - 10^{12}$
Kvalitativní zastoupení (druhy MO)	laktobacily streptokoky kvasinky	laktobacily koliformní bakt. streptokoky bifidobakterie bakteroidy fusobakterie	bakteroidy bifidobakterie streptokoky eubakterie fusobakterie koliformní bakt. klostridia veilonely laktobacily stafylokoky pseudomonády kvasinky	

Tabulka 2: Profil střevní mikroflóry [9].

		žaludek	lačník	kyčelník	tračník
aerobní a fakultativní anaeroby	koliformní bakterie	$0 - 10^2$	$0 - 10^3$	$10^2 - 10^7$	$10^4 - 10^{10}$
	aerobní streptokoky	$0 - 10^3$	$0 - 10^4$	$10^2 - 10^6$	$10^5 - 10^{10}$
	stafylokoky	$0 - 10^2$	$0 - 10^3$	$10^2 - 10^5$	$10^4 - 10^9$
	laktobacily	$0 - 10^3$	$0 - 10^4$	$10^2 - 10^5$	$10^6 - 10^{10}$
	plísně a kvasiny	$0 - 10^2$	$0 - 10^2$	$10^2 - 10^4$	$10^4 - 10^6$
anaerobní	bakteroidy	ojediněle	$0 - 10^3$	$10^3 - 10^7$	$10^{10} - 10^{12}$
	bifidobakterie	ojediněle	$0 - 10^4$	$10^3 - 10^8$	$10^8 - 10^{11}$
	anaerobní streptokoky	ojediněle	$0 - 10^3$	$10^2 - 10^6$	$10^{10} - 10^{12}$
	klostridie	ojediněle	ojediněle	$10^2 - 10^4$	$10^6 - 10^{11}$
	eubakterie	ojediněle	ojediněle	ojediněle	$10^9 - 10^{12}$

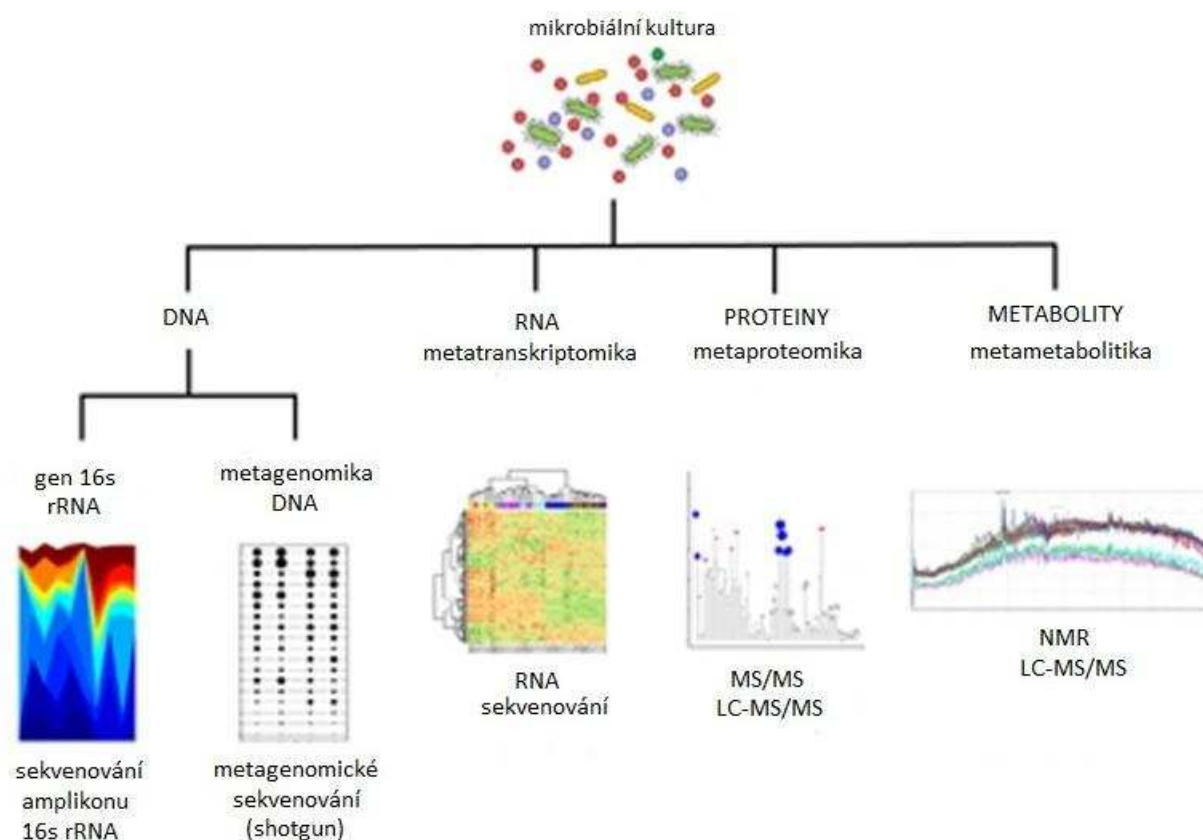
Složení střevní mikroflóry má každý člověk jiné. S vývojem člověka se obměňuje. Její složení je také závislé na tom, zda je jedinec zdravý, nebo zda trpí nějakou nemocí. Také se odvíjí od etnografické příslušnosti, stravovacích návyků a věku a také v tom hraje roli genetická výbava daného jedince [9].

2.1.3.1 Analýza střevní mikroflóry

Protože je mikroflóra trávicího traktu tak rozmanitá, je těžké ji jednoznačně definovat. K analýze mikrobiálních kultur se běžně používají kultivační metody. S vývojem technologií se ale začaly využívat také molekulárně genetické metody zvané metagenomika. Tyto metody pracují s veškerou genetickou informací ve vzorku a poskytují nám daleko více informací o rozmanitosti mikroflóry než kultivační metody. Další krok ve vývoji metagenomické analýzy mikrobiomu je příchod tzv. „new generation sequencing“ (NGS), neboli sekvenování nové generace. NGS jsou vysokokapacitní metody, díky kterým jsme schopni číst několik set tisíc až milionů sekvencí najednou (tzv. „shotgun“ sekvenování) [14].

Díky NGS se stala analýza mikroorganismů v trávicím traktu rychlejší, ekonomičtější a nabízí lepší náhled do složitých interakcí v mikroflóře a umožňuje též masivní množství generovaných výsledků sekvenování [15].

Metagenomické metody, které se zabývají studiem a analýzou komplexní mikrobiální kultury nejen ve střevech, jsou znázorněny na obrázku 3 [15].



Obrázek 3: Přehled používaných technologických operací při analýze střevní mikroflóry [15].

Nejčastěji se identifikace bakteriálních rodů přítomných v mikroflóře trávicího systému provádí pomocí PCR metody stanovením nukleotidové sekvence genu kódujícího 16s rRNA pro probiotické bakterie, jeho obdobou pro eukaryotické mikroorganismy je gen 18s rRNA. Je konzervován ve všech druzích prokaryotických druhů [15]. Jeden z problémů je, že při použití genu 16s rRNA nemůžeme specificky identifikovat bakterie na úrovni druhů, protože sekvenci genu 16s rRNA mají až z 99,5 % společnou. Je to dáno tím, že tento gen neposkytuje dostatečnou fylogenetickou informaci na úrovni druhů [17]. Vývoj molekulárních metod jde stále dopředu, přesto ale zůstává největším zdrojem informací kultivace čistých kultur [14].

2.1.3.2 Vývoj gastrointestinální mikroflóry

Vždy se předpokládalo, že GIT plodu v těle matky je sterilní a že k jeho osídlování dochází až po průchodu porodními cestami. Nedávné studie ale prokázaly přítomnost mikroorganismů i v plodové vodě, placentě, pupečnickové krvi a ve smolce novorozence [18]. Předpokládá se, že se mikroorganismy dostávají do těla plodu polykáním právě plodové vody [16].

Koncentrace mikroorganismů je ale dost nízká a hlavní osídlování začíná až po porodu, kdy je dítě vystaveno vaginálnímu, fekálnímu nebo kožnímu mikrobiomu matky, a to v závislosti na způsobu porodu. Během prvního roku života je střevní mikrobiom kojenců velice jednoduchý. Jejich mikroflóra se vyvíjí a je závislá na době kojení a následném přechodu dětí na pevnou stravu. Kromě mateřské mikroflóry mají na vývoj mikroflóry dětí vliv další vnitřní a vnější faktory. Mezi vnější faktory se řadí mikroorganismy přítomné v bezprostředním okolí, druh stravy a stravovací návyky. A vnitřní faktory jsou pH střev, teplota prostředí, peristaltika střev, žlučové kyseliny a imunita [19].

Nejprve trávicí systém osídlují zástupci fakultativně anaerobních mikroorganismů, rodu *Enterobacter*, *Streptococcus* a *Staphylococcus*, které spotřebovávají a rozkládají kyslík přítomný v systému, aby byl obyvatelný i pro anaeroby. Mezi zástupce anaerobů patří bakterie rodu *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* [20].

Dětská mikroflóra dosáhne stability, která je podobná mikroflóře dospělého jedince okolo 2 – 3 let. Vývoj mikroflóry v tomto období má velký význam na budoucí homeostázu mikrobiomu a na zdraví jedince [18].

Maximální složitosti dosáhne střevní mikroflóra v dospívání. S přibývajícím věkem dochází k fyziologickým změnám GIT a změnám ve stravování. Starším lidem se v závislosti na těchto změnách mění fermentační procesy střev a to vede ke snížení diverzity střevních mikroorganismů a k těžšímu udržení jejich homeostázy. Dochází k poklesu lidem prospěšných bakterií a tím se starší jedinec stává náchylnější k infekcím a onemocněním, které jsou způsobeny bakteriálními druhy rodu *Clostridium* [18].

2.1.3.3 Funkce gastrointestinální mikroflóry

Mikroflóra trávicího systému má mnoho funkcí. Musí být schopna udržovat mikrobiální bariéru proti patogenům a potenciálním patogenům, ovlivňovat motilitu a prokrvení střevní stěny, redukovat bakteriální translokaci a produkovat vitamíny [20]. V neposlední řadě významně přispívá k formování imunitního systému [18].

Sliznice trávicího traktu patří svým rozsahem i funkcí k nejvýznamnějšímu sekundárnímu lymfoidnímu systému (MALT – Mucosa Associated Lymphoid Tissue). Sliznice je intenzivně vystavována externím podnětům a je důležité, aby tento systém byl přesně regulován. Není možné, aby reagoval na všechny podněty. Slizniční imunitní systém je regulován tak aby signály, které nepředstavují jednoznačné nebezpečí, byly tolerovány [21].

Velice nepříznivý vliv na střevní mikrobiom mají antibiotika. Antibiotika, která by byla aplikována v časném období života jsou schopna eliminovat velkou část střevních mikroorganismů a tak nepřímo snížit kolonizační rezistenci v GIT. Kolonizační rezistenci se rozumí schopnost obligátně anaerobních mikroorganismů inhibovat růst potenciálně škodlivých exogenních a endogenních mikroorganismů. Negativní vliv antibiotik na střevní mikroflóru přetrvává i měsíce po skončení léčby. Z toho vyplývá, že narušení přirozené střevní mikroflóry je důvodem pro ztrátu fyziologických regulací imunitního systému, což se nakonec projevuje jako imunopatologická reakce [22].

Mezi další nemoci, které způsobuje porušení rovnováhy střevní mikrobioty se řadí hlavně zánětlivá onemocnění střev, různé metabolické poruchy či onemocnění ale také obezita [23].

Pro optimální rozvoj střevní mikroflóry má u kojenců zásadní úlohu kojení. Mateřské mléko obsahuje řadu látek s prebiotickými vlastnostmi a právě prebiotika a probiotika pozitivně ovlivňují střevní mikroflóru a tím i pozitivně ovlivňují zdraví jedince [22].

2.2 Probiotické mikroorganismy

Termín probiotické mikroorganismy definovala Světová zdravotnická organizace (WHO) jako živé mikroorganismy, které osídlují gastrointestinální trakt (GIT). Při podání adekvátního množství mají důležitou úlohu na funkci trávicího traktu a také jsou důležité při prevenci jeho onemocnění [25], [26].

Abychom mohli bakterie označit jako probiotické, musí splňovat následující kritéria:

- bakterie ani látky, které produkují, nesmí být patogenní ani toxické pro hostitele
- musí prokazatelně pozitivně ovlivňovat zdravotní stav hostitele
- při průchodu trávicím traktem musí odolat nepříznivým podmínkám
- bakterie musí být technicky využitelné (musí zůstat živé, nebo ve formě ze které se mohou pomnožit)
- v potravinářské výrobě nesmí probiotická kultura ovlivnit flavour potravin a jejich účinnost musí být zachována do konce záruční doby [25].

Probiotické bakterie se do těla dostávají buďto v potravinách nebo potravinových doplncích. Přirozeně osídlují trávicí trakt hostitele a pokud jsou podávána v adekvátním množství, tak pozitivně ovlivňují mikroflóru jeho trávicího traktu [26]. Střeva ale nekolonizují trvale, mají pouze dočasný účinek, a to po dobu konzumace potravin nebo doplňků stravy [27].

Jako probiotika se využívají bakterie mléčného kvašení. Mezi bakterie mléčného kvašení se řadí rody *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, ale nevyužívanější jsou bakterie rodu *Lactobacillus* a rodu *Bifidobacterium* [28], [29].

Většina probiotik patří mezi prokaryota. Existují už také eukaryotická probiotika. Mezi nejznámější eukaryotické mikroorganismy mající probiotický účinek patří *Saccharomyces cerevisiae* a *Saccharomyces cerevisiae* var. *bullardii* [30].

Tabulka 3: Znamé probiotické mikroorganismy [31].

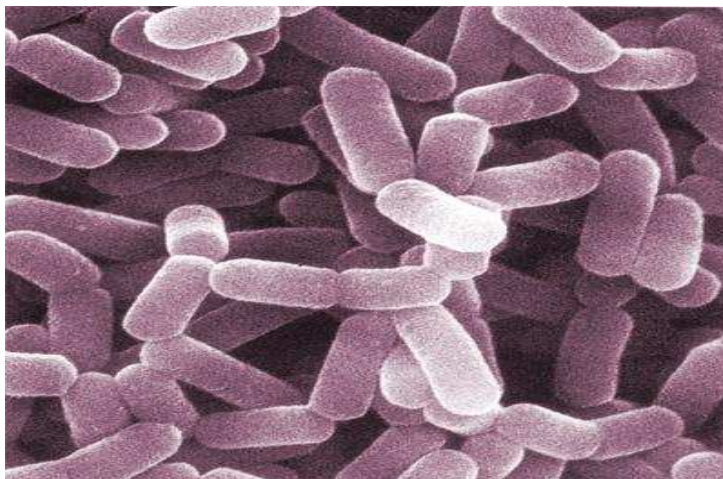
rod <i>Lactobacillus</i>	rod <i>Bifidobacterium</i>
<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> <i>L. crispatus</i> <i>L. gallinarum</i> <i>L. gasseri</i> <i>L. johnsonii</i> <i>L. paracasei</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. reutei</i> , <i>L. rhamnosus</i>	<i>B. adolescentis</i> <i>B. animalis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. lactis</i> <i>B. longum</i>
další ze zástupců bakterií mléčného kvašení	ostatní
<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>E. faecium</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Sporolactobacillus inulinus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i> <i>Sacharomyces cerevisiae</i> <i>S. boulardii</i> <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus cereus</i> var. <i>to yoi</i>

2.2.1 Rod *Lactobacillus*

Bakterie rodu *Lactobacillus* jsou tyčinkovité, gram-pozitivní, nesporotvorné bakterie. Běžně se vyskytují v gastrointestinálním traktu. Také se vyskytují v mléčných výrobcích (sýry, jogurty, zmrzliny). Komerčně se používají se při výrobě těchto fermentovaných mléčných výrobků. Přirozeně se vyskytují v nakládaných zeleninových výrobcích (kyselé zelí, pickles). Mohou být také obsaženy v džusech, vínech, v kváskových chlebech nebo i v některých klobásách [31], [33].

Mohou přežít jak v aerobním tak i v anaerobním prostředí. Optimální podmínky jejich růstu jsou při teplotě 35 – 40 °C. Optimální pH se pohybuje v rozmezí 4,5 – 6,4. Buňky rodu *Lactobacillus* jsou také náročné na přítomnost živin v matrici. Pro svůj růst potřebují kromě sacharidických složek glukózy a fruktózy, taky aminokyseliny, nukleotidy a vitamíny [32],[33], [34].

Zástupci rodu *Lactobacillus* se dělí na homofermentativní a heterofermentativní. Homofermentativní zástupci metabolizují hexózy a pentózy na kyselinu mléčnou. Kyselina mléčná musí být v konečných produktech obsažena minimálně z 85%. Mezi homofermentativní bakterie patří *L. acidophilus*, *L. casei*, a *L. plantarum*. Heterofermentativní druhy rodu *Lactobacillus* fermentují hexózy a pentózy; kromě kyseliny mléčné, také na kyselinu octovou, mravenčí, etanol a oxid uhličitý. Mezi heterofermentativní bakterie patří například *L. brevis* a *L. fermentum*. Fermentací glukózy na kyselinu mléčnou a další heterofermentativní produkty kvašení dochází ke snížení pH. Pokles pH vede k vytvoření nepříznivých podmínek pro potenciálně patogenní a patogenní mikroorganismy v potravinářských výrobcích nebo v GIT [32], [33].

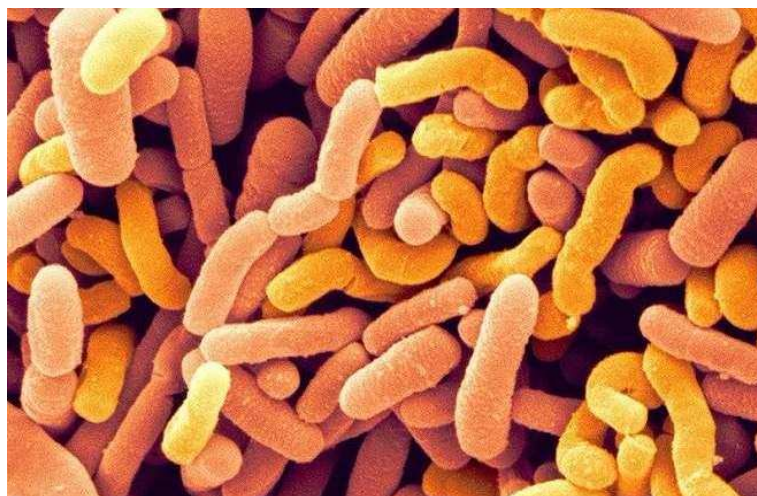


Obrázek 4: Zástupce rodu *Lactobacillus* [37].

2.2.2 Rod *Bifidobacterium*

Rod *Bifidobacterium* představují gram-pozitivní, striktně anaerobní, chemoorganotrofní, nesporulující, nepohyblivé, tyčinkovité mikroorganismy. Sice jsou považovány za striktně anaerobní, ale někteří zástupci dokážou přežít i při určitém množství oxidu uhličitého nebo i kyslíku. Optimální teplota pro růst bifidobakterií je 37 – 41 °C a optimální pH má hodnotu okolo 6 – 7. Vykazují striktně fermentativní metabolismus a zaměřují se zvláště na krátké oligosacharidy [32], [36].

Vyskytují se hlavně v gastrointestinálním traktu, dále pak mohou být v odpadní vodě, mateřském mléce nebo fermentovaných mléčných výrobcích. Bifidobakterie jsou mezi prvními bakteriemi, které kolonizují lidský trávicí trakt a nejvíce jich je zastoupeno tlustém střevě, až 90 % z celkového mikrobiomu střeva [36].



Obrázek 5: Zástupce rodu *Bifidobacterium* [38].

2.2.3 Mechanismus účinku probiotických mikroorganismů

Přesné mechanismy všech pozitivních účinků, kterými probiotika působí na své hostitele, nejsou příliš zdokumentovány. Na obrázku 6 jsou graficky znázorněny jak známé, tak i potencionální mechanismy účinku probiotických bakterií [28], [40].

Jedním z hlavních mechanismů probiotických účinků je zabránění patogenním mikroorganismům přichytit se na epitel střev. Místo patogenních mikroorganismů se na epitel zachytí probiotické bakterie a vytvoří tím jakousi kolonizační bariéru, která zabrání efektivní kolonizaci patogenů. Adheze probiotických bakterií na epitelu střev je také důležitá pro modulaci imunitního systému [28][41][42].

Střevní bariéra je hlavním obranným mechanismem, který chrání organismus před vlivy prostředí. Pokud je tato funkce narušena, dojde k adhezi a následné kolonizaci patogenů na střevní sliznici. Může dojít k zánětlivé reakci a to může vést až ke střevnímu onemocnění. Probiotické bakterie jsou používány hlavně proto, aby zlepšily, posílily a udržovaly funkčnost bariéry a také, aby obnovily slizniční integritu [43], [44].

Střevní obranná bariéra se skládá ze slizniční vrstvy, antimikrobiálních peptidů, B-lymfocytů produkujících IgA (imunoglobulin A) a dynamických junkčních komplexů [44].

Muciny jsou hlavní složky epiteliálního hlenu, který se také podílí na ochraně střevní mikroflóry. Jedním z mechanismů účinku probiotických bakterií pro zlepšení bariérové funkce slizničního systému může být také podpora sekrece právě tohoto hlenu a tím vyloučení patogenů ze systému [43].

Dalším mechanismem probiotických bakterií na ochranu lidského zdraví je tzv. konkurenční vyloučení patogenních mikroorganismů ze střevního traktu. Patogeny soutěží s probiotickými bakteriemi o receptorová místa na povrchových proteinech a na glykoproteinu mucinu. Toto ale nejsou jediné mechanismy, kterými dochází k vyloučení nebo omezení růstu patogenních mikroorganismů. Další jsou například tvorba nepřátelského prostředí, kdy probiotika změni své okolí, aby bylo méně vhodné pro jejich konkurenty, také vyčerpávají základní živiny a tím znemožňují růst patogenům [43].

Dalším z možných mechanismů, jak chránit střevní mikroflóru před patogeny, je syntéza antimikrobiálních sloučenin. Mnoho typů laktobacilů a bifidobakterií produkuje bakteriociny. Ty jsou definovány jako sloučeniny produkované bakteriemi, které mají část proteinu biologicky aktivní a mají baktericidní účinek [45], [46]. Bakteriociny produkované grampozitivními

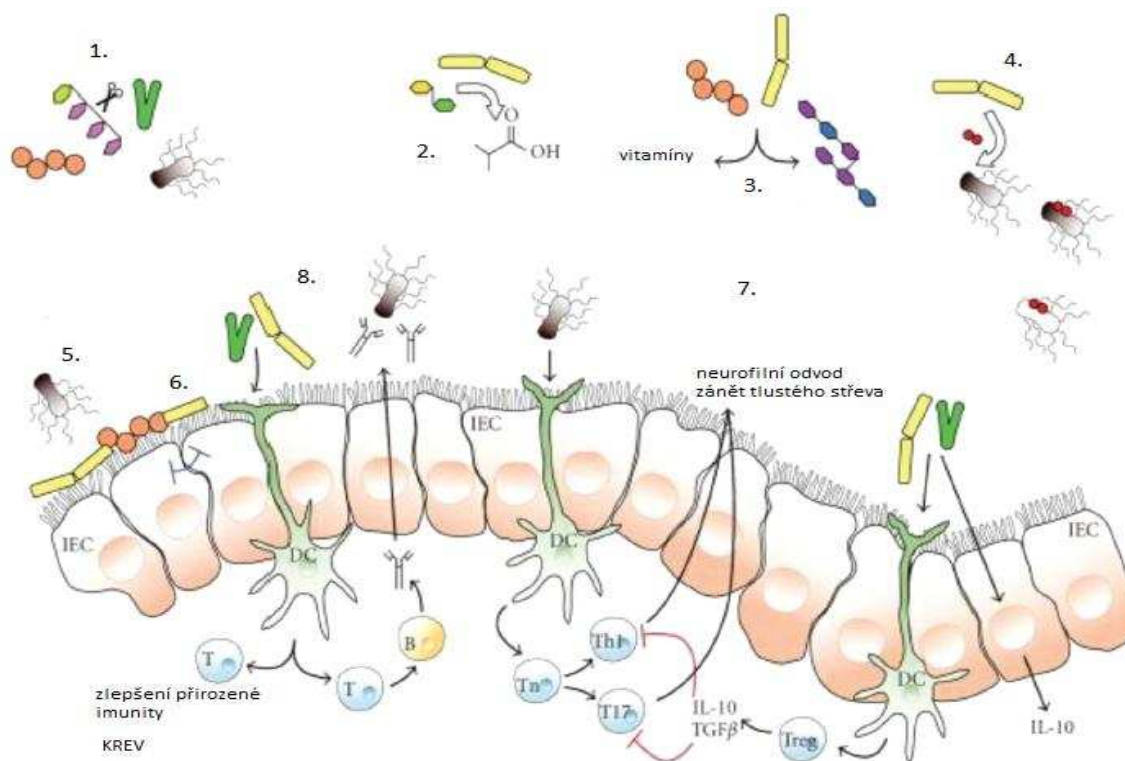
bakteriemi mají omezené spektrum aktivity a působí proti příbuzným bakteriím. Ostatní bakteriociny ale působí i proti patogenům v potravinách [47]. Bakteriociny zabíjejí cílové buňky patogenů buď tvorbou pórů, nebo inhibicí syntézy buněčné stěny. Například nisin tvoří komplex s konečnými prekurzory pro tvorbu buněčných stěn, a tím inhibuje její syntézu [48],[49].

Nejsou to ale jen bakteriociny, probiotické mikroorganismy také produkují organické kyseliny (například rod *Lactobacillus* produkuje kyselinu mléčnou), které mají silný inhibiční účinek na gramnegativní bakterie, a jsou považovány za hlavní antimikrobiální sloučeniny odpovědné za inhibiční účinek probiotik vůči patogenům. Mezi další biologicky aktivní sloučeniny produkované probiotiky řadíme i peroxid vodíku, mastné kyseliny s krátkým řetězcem a diacetyl. Z mastných kyselin stojí za zmínku kyselina linolová, která je silným anti-karcinogením činidlem [45], [50], [51], [52].

Některé kmeny laktobacilů nebo bifidobakterií produkují sloučeniny s poměrně nespecifickým účinkem. Tyto látky mohou negativně ovlivnit jak patogenní tak i tělu prospěšné bakterie [45].

Probiotické bakterie jsou také schopné syntetizovat vitamíny. Vitamíny jsou důležité mikronutrienty, které jsou často prekurzory enzymů. Syntéza vitamínů je velmi důležitý aspekt pozitivního působení probiotických bakterií na hostitele. Člověk si sám mnoho vitamínů syntetizovat nedokáže a musí je přijímat zvenčí. Využití vitamínů syntetizovaných mikroorganismy se dá využít hlavně pro funkce lidského těla, ale také by mohly být využity v potravinářství pro výrobu potravin s vyšším množstvím vitamínů [53].

Probiotické bakterie stejně jako komenzální bakterie trávicího traktu produkují vitamín K a vitamíny skupiny B, jako jsou kobalamin, pyridoxin, riboflavin, thiamin a kyselina listová.



Obrázek 6: Schématický diagram znázorňující známé a potencionální mechanismy účinku probiotických bakterií na mikroflóru trávicího traktu (1) kompetitivní výběr dietní složky jako růstového substrátu, (2) biokonverze např. cukrů s inhibičními vlastnostmi do fermentačních produktů, (3) produkce růstových substrátů nebo vitamínů, (4) řízení antagonismu bakteriociny, (5) konkurenční vyloučení patogenních mikroorganismů na vazebných místech, (6) zlepšení bariérové funkce, (7) snížení možnosti zánětu a změna vlastností střevního epitelu a (8) stimulace vrozeného imunitního systému [40].

2.2.4 Vliv matrice potravin a nápojů na životaschopnost probiotických bakterií

Pro probiotické bakterie je důležité, aby se dostaly v co nejhojnějším zastoupení a životaschopné do oblasti svého působení, tj. tenkého a tlustého střeva [54]. V horní části trávicího systému jsou vystavovány nepříznivému prostředí, jako je kyselost žaludku, doba, kterou jsou vystaveny v kyselinách, hydrolázová aktivita žlučových solí. A také záleží na použitých kmenech probiotických bakterií [55].

Existuje řada důkazů, že důležitou roli na viabilitu, blahodárné účinky probiotik a tedy i dobrý průchod přes horní části trávicího systému má matrice potravin a nápojů. V dnešní době se většina výzkumů zaměřuje na charakterizaci specifických probiotických kmenů, protože každý kmen je unikátní a má specifické vlastnosti, které nelze odvodit ani od blízkých kmenů bakterií. Dále pak se zaměřuje na charakterizaci a vliv potravinové matrice a zejména na její vliv na nejúčinnější probiotické kmeny [56]. Rovněž je zkoumána dlouhodobá stabilita a viabilita buněk v různých potravinových maticích [57].

Nejvíce jsou testovány fermentované mléčné výrobky a ovocné nebo zeleninové šťávy, protože jejich kombinace se jeví jako velmi slibná. Jak je známo, tak fermentované mléčné výrobky jsou velmi vhodným prostředím pro probiotické bakterie [55]. Naproti tomu ovocné složky, jako jsou šťávy granátového jablka, broskví, ananasu, zeleného jablka, kiwi nebo např. brusinek mají na životaschopnost probiotických bakterií specifický účinek. Třeba šťáva ananasu nebo kiwi měla špatný vliv na růst *L. acidophilus*, zatímco šťáva z broskví neměla na viabilitu probiotik vůbec žádný vliv. Šťávy granátového jablka neovlivňují životaschopnost probiotických bakterií kmene *Lactobacillus* a u kmenu *Bifidobacterium* byl pokles životaschopných buněk zanedbatelný. Ale například šťáva z jahod inhibuje růst všech probiotických kmenů kromě *L. casei* [58], [59], [61].

Ale nejsou to jen příznivé účinky ovocných šťáv na probiotické kmeny nebo na stabilitu potravin, proč jsou tak hodně používány. Ovocné šťávy také zpestřují organoleptické vlastnosti produktů, což je pro spotřebitele velmi žádoucí [58], [59][60].

Aplikace probiotických bakterií čistě jen do ovocných nebo zeleninových šťáv je velice slibná. V dnešní společnosti je řada lidí, kteří trpí nesnášenlivostí laktózy nebo alergií na mléko a právě to zvyšuje poptávku po nemléčných probiotických výrobcích. V ovocných nebo zeleninových šťávách je ale zase řada faktorů, které mohou probiotické bakterie zničit. Je to kyselost daného produktu (pH), přítomnost antimikrobiálních látek, nedostatek nutrientů pro vlastní růst nebo oxidační stupeň šťávy [62]. Bude tedy třeba další výzkumy pro nalezení optimální formy aplikace probiotik v nemléčných výrobcích.

S rostoucí poptávkou po nových probiotických potravinách se také zkoumají vlivy ostatních potravin na životaschopnost probiotik. Testují se cereální výrobky, kukuřice, ryby, maso nebo čokoláda, která se jeví jako velmi slibná matrice pro probiotika [63],[64], [65].

Komplexní testování vlivu potravinové matrice na viabilitu vybraných probiotik je i předmětem experimentální části předložené práce.

3 Cíle práce

Cílem práce je vyhodnocení vlivu různých potravin a nápojů na životaschopnost probiotických bakterií. Účelem je nalezení vhodných i zcela nevhodných potravin přijímaných do těla společně s probiotiky. V rámci této práce byly řešeny následující dílčí úkoly:

1. Vypracování rešerše zaměřené na probiotika a jejich metabolismus.
2. Optimalizace metod kultivace a stanovení viability vybraných probiotických kmenů.
3. Výběr sestavy běžných potravin a inkubace probiotik v prostředí vybraných potravin.
4. Hodnocení růstu a viability probiotik v přítomnosti vybraných potravin, výživová doporučení.

4 Experimentální část

4.1 Použité chemikálie

MRS Broth médium - Himedia (IND)

Agar powder - Himedia (IND)

Bile salts – směs kyseliny cholové a deoxycholové – Sigma-Aldrich (SRN)

Pankreatin z vepřové slinivky – Sigma-Aldrich (SRN)

Pepsin z prasečí žaludeční sliznice – Sigma-Aldrich (SRN)

Kyselina chlorovodíková, 35% - Vitrum–LachNer (ČR)

Hydrogenuhličitan sodný - Vitrum–LachNer (SRN)

Dihydrogenfosforečnan sodný monohydrát p.a. - Vitrium-Lach:NER (ČR)

Hydrogenfosforečnan sodný dihydrát p.a. - Vitrium-Lach:NER (ČR)

Propidiumjodid, eBioscience (USA)

4.2 Použité pomůcky a přístroje

Ultrazvuková lázeň PS02000 (ČR)

Centrifuga vysokorychlostní chlazená Z36HK, Hermle (D)

Předvážky Ohaus ScoutPro (USA)

Termostat INCU-Line, VWR (USA)

Průtokový cytometr Apogee A50, Apogee Flow Systems (GB)

LIFE BOX pro gradientový cykler (Airstream), ESCO (SGP)

4.3 Použité probiotické kmeny bakterií

K tomuto experimentu byly použity bakteriální kultury *Lactobacillus acidophilus* CCM 4833 a *Bifidobacterium breve* CCM 7825. Tyto bakteriální kultury byly získány z České sbírky mikroorganismů Masarykovy univerzity v Brně.

Také byl použit komerční přípravek Biopron 9 vyráběný firmou Valosun, který byl složen z bakteriálních kultur *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus lactis* a *Streptococcus thermophilus*.

4.4 Kultivace probiotik

Ke kultivaci byly použity probiotické kultury *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium breve*. Kultivace těchto bakterií byla prováděna na komerčním MRS médiu. Médium bylo smícháno s destilovanou vodou podle návodu na koncentraci 55,15 g/l. Takto připravené médium v Erlenmayerově baňce bylo sterilováno v tlakovém hrnci s otevřeným ventilem po dobu 30 minut.

Kultury probiotik byly zočkovány ve sterilním boxu a inkubovány při teplotě 37 °C po dobu 24 hodin. Pro kultivaci bylo použito 30 ml příslušného média.

Při přípravě tuhého média byl ke komerčnímu MRS médiu přidán agar o koncentraci 15 g/l. Pevné médium bylo používáno k samotnému testování viability probiotik.

4.4.1 Příprava probiotik pro stanovení viability

Probiotická kultura inkubovaná 24 hodin ve 30 ml kapalného komerčního média byla centrifugována při 5 000 otáčkách po dobu 5 minut. Supernatant byl slit, zbylé buňky byly rozsuspendovány v 30 ml sterilované vody a postup byl zopakován. Poté byly kultury rehydratovány po dobu 20 minut. Komerční kapsle byla rehydratována ve sterilní vodě po dobu 20 minut.

4.5 Vybrané potraviny a nápoje k testování

K testování vlivu potravin a nápojů na viabilitu a růst probiotických bakterií byly vybrány potraviny tak, aby byla pokryta co nejširší škála nabízených druhů výrobků na trhu. Mezi testovanými nápoji jsou zastoupeny nealkoholické limonády, voda, mléko, káva, čaj a pivo. Zástupci testovaných potravinových výrobků jsou například instantní polévka s játrovými knedlíčky, makovec, hamburger, vlašský salát nebo nugeta.

Přehled všech potravin, které byly testovány, jsou zaznamenány v Tabulce 4. Podrobná charakterizace potravin včetně uvedení jejich nutričních hodnot je uvedena v příloze 1.

Tabulka 4: Přehled testovaných nápojů a potravin

	nápoje	polévky	hlavní jídla	pochutiny	
1.	voda	hovězí bujón	cheeseburger	jogurt	ovesná kaše
2.	černý čaj	hrášková instantní polévka s krutony	instantní těstoviny se smetanovou omáčkou	čokoládový pudink se šlehačkou	závin s makovou náplní
3.	káva	instantní polévka s játrovými knedlíčky	kuřecí maso s rýží	arašídová pomazánka	rohlík
4.	pivo			vlašský salát	ovoce
5.	džus			chipsy solené	zelenina
6.	coca-cola				
7.	mléko				

4.5.1 Příprava potravin k testování

Každá testovaná potravina byla připravena či upravena přesně podle návodu na obalu (viz. příloha 1). Připravené a již hotové potraviny byly homogenizovány a bylo u nich zjištěno pH.

4.6 Modelové trávicí šťávy

Připravené potraviny s probiotickými bakteriemi jsme přidali do trávicí šťávy vždy v poměru 3:2. Inkubace v modelovém trávicím systému probíhala za stálého promíchávání při teplotě 37 °C. V žaludečních trávicích šťávách byly potraviny i nápoje inkubovány po dobu 20 minut. V pankreatické a žlučové šťávě byly nápoje inkubovány po dobu 60 minut a potraviny byly inkubovány 120 minut.

4.6.1 Příprava žaludeční šťávy

K přípravě modelové žaludeční šťávy bylo použito 0,25 g pepsinu, který byl rozpuštěn ve 100 ml vody. K tomuto roztoku bylo dále přidáno 0,84 ml 35 % kyseliny chlorovodíkové. Hodnota pH vzniklého roztoku byla upravena na 0,9 [68].

4.6.2 Příprava pankreatické šťávy

Modelová pankreatická šťáva byla připravena rozpuštěním 0,25 g pankreatinu, 1,5 g hydrogenuhličitanu sodného ve 100 ml vody. Hodnota pH vzniklého roztoku byla upravena na pH = 8 – 9 [68].

4.6.3 Příprava žlučové šťávy

Při přípravě žlučové šťávy bylo 0,8 g žlučových solí rozpuštěno ve 200 ml fosfátového pufru [68].

4.7 Testování viability a růstů probiotik v potravinách

K připraveným potravinám byly přidány probiotické bakteriální kultury *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium breve*, a komerční směs 9 probiotických kmenů. Všechny tyto bakteriální kultury byly smíchány s potravinou v poměru 1:1, inkubovány 20 minut a podrobeny trávicímu procesu.

4.7.1 Testování viability v nápojích pomocí cytometru

Rehydratované probiotické kultury byly přidány k nápojům 1:1. Tato směs byla inkubována po dobu 20 minut. Po inkubaci byly nápoje smíchány s žaludečními šťávami v poměru 3:2 a po dobu 20 a 120 minut byly nápoje podrobeny modelovému trávení v žaludku. Ve střevech probíhalo modelové trávení 20, 60 a 180 minut.

Po inkubaci v potravíně i po modelovém trávení v žaludku a střevech bylo odebráno 100 µl vzorku a doplněno do 1 ml, ke kterému byl přidán propidiumjodid. Po 5 minutách inkubace ve tmě byla změřena viabilita probiotických bakterií pomocí průtokového cytometru.

4.7.2 Testování viability v nápojích pomocí kultivační metody

Rehydratované probiotické kultury byly přidány k nápojům 1:1. Tato směs byla inkubována po dobu 20 minut. Po inkubaci byly nápoje smíchány s žaludečními šťávami v poměru 3:2 a po dobu 20 minut byly nápoje podrobeny modelovému trávení v žaludku. Ve střevech probíhalo modelové trávení 60 minut.

Viabilita probiotických bakterií byla testována kultivační metodou na Petriho miskách s MRS médiem metodou přelivu. Po 48 hodinách byly spočteny narostlé kolonie.

4.7.3 Testování viability v potravinách pomocí kultivační metody

Rehydratované probiotické kultury byly přidány k potravíně v poměru 1:1. Tato směs byla inkubována po dobu 20 minut. Po inkubaci byla směs podrobena simulaci trávení. V poměru 3:2 byly postupně přidány žaludeční, pankreatická a žlučová šťáva. V žaludeční šťávě trval modelový trávicí proces 20 minut, u složitějších potravin 30 minut a ve střevech 120 minut.

Viabilita probiotických bakterií byla testována kultivační metodou na Petriho miskách s MRS médiem metodou přelivu. Po 48 hodinách byly spočteny narostlé kolonie.

U každé testované potraviny bylo změřeno pH. Hodnota pH byla potom dále kontrolována u trávení v žaludku i ve střevech.

5 Výsledky a diskuze

Tato práce byla zaměřena na vliv různých druhů potravin a nápojů na viabilitu a růst probiotických bakterií. Byly testovány potraviny a nápoje z co nejširšího spektra výrobků nabízených v obchodních řetězcích. Z nápojů byly testovány voda, černý čaj, káva, pivo, cola, džus a mléko. Z potravin byly vybrány některé druhy polévek, mléčné výrobky, ovoce, zelenina, pečivo, hamburger, chipsy nebo nugeta. Veškeré testované potraviny a nápoje, jejich složení a nutriční hodnoty jsou shrnuty v příloze 1.

Viabilita probiotických bakterií v potravinách byla testována pomocí kultivace, metodou přelivu. Viabilita u nápojů byla testována také kultivačně a poté výsledky u nápojů, které vyšly nejlépe, byly důkladněji ověřeny pomocí průtokového cytometru.

5.1 Nápoje

Jako zástupce nápojů byla vybrána čistá voda, černý čaj, káva, coca-cola, džus, pivo a mléko.

5.1.1 Charakterizace nápojů

Nutriční hodnoty nápojů byly definovány podle informací výrobců na etiketách (**Příloha 1**). Veškeré hodnoty jsou vztaženy na 100 ml nápoje a jejich pH bylo určeno pomocí lakmusového pH papírku. V Tabulka 5 jsou zaznamenány všechny tyto hodnoty.

Nejvíce jsou v nápojích zastoupeny cukry. Nejvyšší množství cukrů je obsaženo v coca-cole - 11,00 g a v džusu je 11,20 g. V čaji a čisté vodě nejsou obsaženy žádné nutrienty. Většina nápojů má neutrální pH, jen džus má pH kyselé, pH = 3.

Nutriční hodnoty a pH prostředí jsou důležité parametry pro potencionální výběr optimálního prostředí, které zaručí růst probiotických bakterií.

Tabulka 5: Nutriční hodnoty nápojů a hodnota jejich pH

	Nutriční hodnoty ve 100 ml nápoje					
	bílkoviny [g]	cukry [g]	tuky [g]	sůl [g]	vláknina [g]	pH
voda	-	-	-	-	-	7
čaj	-	-	-	-	-	7
káva	0,10	-	0,04	0,01	-	6
kola	-	11,20	-	-	-	6
džus	-	11,00	-	-	-	3
pivo	0,50	1,60	-	-	0,3	5
mléko	1,50	4,70	3,30	0,10	-	7

5.1.2 Stanovení viability pomocí kultivačních metod



a) Rod *Lactobacillus*

b) Rod *Bifidobacterium*

c) Komerční směs

Obrázek 7: Rody *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* a komerční směs kultivovaná 48 hodin na MRS agaru na Petriho miskách

U kultivační metody byla prvně vytvořena koncentrační řada, aby byly viabilní buňky na misce přehlednější a aby se lépe počítaly. Pro vyhodnocení bylo vybráno ředění 10^4 .

Nápoj s probiotickou kulturou byl naředěn na vybranou koncentraci a nanesen na misku před a po trávení. Protože jsou probiotické bakterie převážně anaerobní, byla zvolena metoda přelivu, aby byl omezen přístup kyslíku. Takto připravené misky byly inkubovány při 37 °C po dobu 48 hodin.

Po inkubaci byly viabilní buňky spočítány a počty kolonií jsou zaznamenány v tabulce 6, 7 a 8.

5.1.2.1 Viabilita rodu *Lactobacillus*

Nejvíce viabilních buněk *Lactobacillus acidophilus* bylo po 20 minutové inkubaci v nápojích (a před inkubací v trávicích šťávách) nalezeno v čisté vodě a v mléce. Po inkubaci trávicím procesem přežilo nejvíce buněk v mléce, pak v čaji a méně v kafe (Tabulka 6)

Mléčné výrobky jsou, jak je známo, velmi dobré substráty pro životaschopnost probiotických bakterií, proto také není překvapením, že i po simulaci trávicího procesu je v mléce obsaženo buněk nejvíce. V mléce je dokonce více životaschopných buněk po trávení než před trávením. To může být způsobeno vhodnými podmínkami pro pomnožení buněk, nebo již přítomností nějakých probiotických kultur v potravině.

V čisté vodě přežilo trávicí proces pouze 1,59 % buněk *Lactobacillus acidophilus*. Toto potvrzuje doporučení na příbalových letácích u komerčních probiotických přípravků, že probiotické bakterie se mají užívat po jídle.

U čaje přežilo 62,50 % viabilních buněk. Tak vysoké procento přeživších buněk může být způsobeno optimálními teplotními podmínkami čaje, nebo tříslovinami, které jsou v čaji obsaženy a mohou do jisté míry zastoupit prebiotika a ochránit probiotické bakterie před působením trávicích enzymů.

Nízké procenta přeživších buněk po trávicím procesu u koly 8,52 % nebo piva 2,32 % mohou být způsobeny i tím, že se jedná o nápoje sycené oxidem uhličitým a to není pro probiotické bakterie vhodné. U kávy, je nejspíš úmrtnost buněk způsobena přítomností kofeinu. U džusů je jedním z důvodů hlavně nízká hodnota pH, přítomnost antimikrobiálních látek nebo nedostatek nutričních pro jejich růst.

Všechny počty viabilních buněk *Lactobacillus acidophilus* v nápojích před a po trávení jsou zaznamenány v tabulce 6.

Tabulka 6: Počet viabilních buněk před a po trávení u rodu *Lactobacillus*

	Lactobacillus acidophilus (LA)			
	pH	počet viabilních buněk před trávením	počet viabilních buněk po trávení	%
voda	7	$1,89 \cdot 10^9$	$3,00 \cdot 10^7$	1,59
čaj	7	$1,20 \cdot 10^7$	$0,75 \cdot 10^7$	62,50
káva	6	$7,76 \cdot 10^8$	$1,50 \cdot 10^7$	1,93
kola	6	$3,52 \cdot 10^8$	$3,00 \cdot 10^7$	8,52
džus	3	$9,04 \cdot 10^8$	$0,25 \cdot 10^7$	1,38
pivo	5	$5,38 \cdot 10^8$	$1,25 \cdot 10^7$	2,32
mléko	7	$1,88 \cdot 10^9$	$5,18 \cdot 10^9$	275,83

5.1.2.2 Viabilita rodu *Bifidobacterium*

Jak vyplývá z údajů shrnutých v tabulce 7, u druhu *Bifidobacterium breve* bylo nejvíce buněk zachováno po 20 minutové inkubaci v mléce. V mléce bylo nejvíce viabilních buněk i po trávení. Stejně jako u druhu *Lactobacillus acidophilus* bylo nejspíš rehydratováno více buněk, protože mléčné výrobky jsou dobrou matricí pro probiotické bakterie. Je také možné, že v mléce již nějaký počet probiotických bakterií už byl.

V čaji přežilo trávicí proces 73,53 % buněk *B. breve*. Takto vysoká hodnota mohla být stejně jako u buněk *Lactobacillus acidophilus* způsobena optimální teplotou růstu nebo přítomností tříslovin, které se projeví jako prebiotikum a ochránily buňky *Bifidobacterium breve* před trávicími enzymy.

U koly byl počet viabilních buněk po trávicím procesu 18,54 %. Kola obsahuje vysoký obsah cukrů, které nejspíš *Bifidobacterium breve* dokáže metabolizovat pro svou vlastní potřebu. Ale procento přeživších není nijak vysoké, což může být způsobeno nasycením koly oxidem uhličitým.

U kávy přežilo trávicí proces pouze 1,68 % buněk *B. breve*. Na takto nízké procento přeživších buněk může mít nejspíš vliv obsah kofeinu. Ve vodě trávicí proces přežilo pouze 9,77 % viabilních buněk a v džusu, díky jeho nízkému pH přežilo pouze 3,57 %.

Tabulka 7: Počet viabilních buněk před a po trávení u rodu *Bifidobacter*

	Bifidobacterium breve (BB)			
	pH	počet b viabilních buněk před trávením	počet viabilních buněk po trávení	%
voda	7	$1,28 \cdot 10^8$	$1,25 \cdot 10^7$	9,77
čaj	7	$0,17 \cdot 10^8$	$1,25 \cdot 10^7$	73,53
káva	6	$5,96 \cdot 10^8$	$1,00 \cdot 10^7$	1,68
kola	6	$8,36 \cdot 10^8$	$1,55 \cdot 10^8$	18,54
džus	3	$2,80 \cdot 10^8$	$1,00 \cdot 10^7$	3,57
pivo	5	$3,80 \cdot 10^8$	$2,00 \cdot 10^7$	5,26
mléko	7	$1,81 \cdot 10^9$	$4,50 \cdot 10^9$	248,34

5.1.2.3 Viabilita komerční směsi

U komerční směsi byl největší počet viabilních buněk nalezen po 20 minutové inkubaci v nápoji v prostředí mléka, vody a piva (Tabulka 8).

Nejvyšší počet živých buněk byl v mléce, a to 315,79 %. Stejně jako pro monokultury *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium breve*, tak i pro směs probiotických bakterií je mléko vhodné prostředí pro jejich růst. Hodnota vyšší než 100 % viabilních bakterií může být způsobena buďto již přítomností probiotických bakterií v potravíně, nebo pomnožením buněk.

Ve srovnání s ostatními nápoji přežilo ve vodě simulaci trávicího procesu pouze 76,09 % buněk. Uvedená skutečnost potvrzuje doporučení výrobce, aby se tato komerční směs užívala po jídle. V čaji zůstává po trávicím procesu 136,36 % viabilních bakterií, v kávě je to 269,23 %, v kole je procento viabilních buněk 315,79 %, v džusu je pouze 95,24 % vitálních bakterií a v pivu jich je 197,37 %.

Stejně jako u vody je počet viabilních buněk v džusu velmi nízký. Je jen 95,24 % což má za následek nízká hodnota pH, která není optimální pro růst probiotických bakterií.

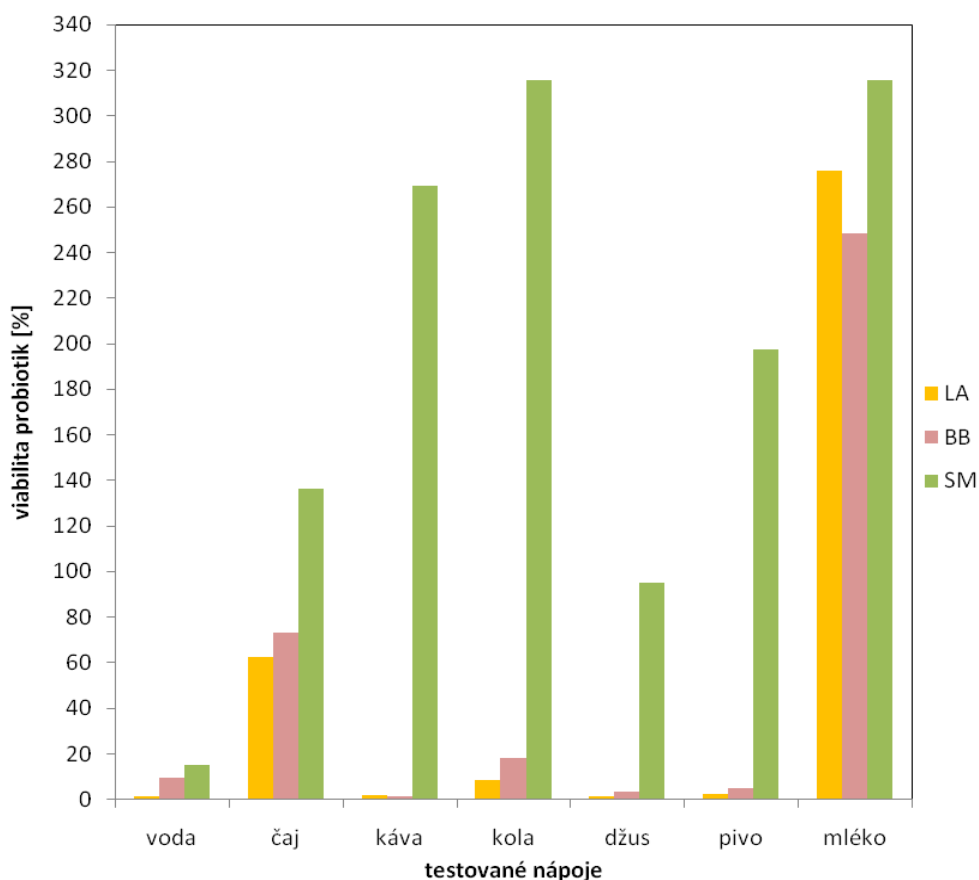
Tabulka 8: Počet viabilních buněk před a po trávení u komerční směsi

	Komerční směs (SM)			
	pH	počet viabilních buněk před trávením	počet viabilních buněk po trávení	%
voda	7	$2,30 \cdot 10^7$	$1,75 \cdot 10^7$	76,09
čaj	7	$5,50 \cdot 10^6$	$7,50 \cdot 10^6$	136,36
káva	6	$6,50 \cdot 10^6$	$1,75 \cdot 10^7$	269,23
kola	6	$9,50 \cdot 10^6$	$3,00 \cdot 10^7$	315,79
džus	3	$1,05 \cdot 10^7$	$1,00 \cdot 10^7$	95,24
pivo	5	$1,90 \cdot 10^7$	$3,75 \cdot 10^7$	197,37
mléko	7	$3,80 \cdot 10^7$	$1,20 \cdot 10^8$	315,79

Ve všech nápojích přežil dostatečný počet probiotických bakterií. Vědci se domnívají, že optimální množství pro jejich správný účinek se pohybuje v rozmezí od 10^6 - 10^9 CFU/g [25].

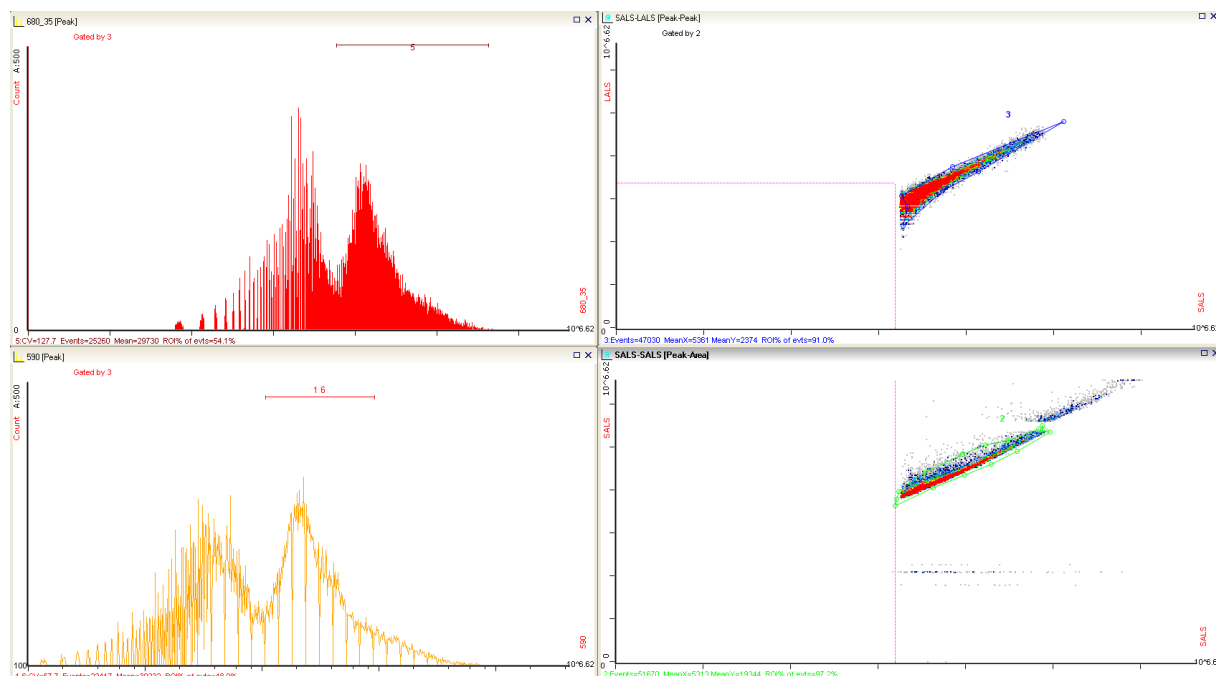
V grafu 1 je znázorněn přehled výsledků viability u všech použitých kmenů probiotických bakterií, u kterých byla testována viabilita v nápojích. Ze srovnání je patrné, že nejvíce viabilních buněk jak u komerční směsi 9 probiotických kmenů, tak i u monokultur *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium breve* je v mléce. Také je na tomto grafu patrné, že směs probiotických bakterií je odolnější vůči prostředí nápojů i vůči trávicímu procesu než monokultury probiotik.

viabilita probiotik v nápojích



Graf 1: Porovnání viability použitých kmenů probiotických bakterií ve všech nápojích

5.1.3 Stanovení viability probiotik v nápojích pomocí průtokového cytometru



Obrázek 8: Znáznornění výstupu z průtokového cytometru, živé a mrtvé buňky u komerční směsi.

Na základě výsledků kultivační metody nápojů, byly nejlepší výsledky důkladněji proměřeny na průtokovém cytometru. Pomocí průtokového cytometru bylo možné změřit pouze část nápojů, poněvadž výrazně koloidní prostředí (př. mléko) může negativně ovlivnit měření (**Tabulka 9**).

Nejvyšší počet viabilních buněk byl zaznamenán před trávením po 20 minutové inkubaci v čisté vodě. Následné vystavení probiotických bakterií žaludečním šťávám na 20 minut přežilo nejvíce probiotických bakterií opět ve vodě - $2,56 \cdot 10^8$. Po 20 minutovém působení žaludečních šťáv na nápoje byla pak polovina směsi odebrána a vystavena působení pankreatické a žlučové šťávy. Simulaci trávení ve střevech nejlépe odolala probiotická směs v limonádě s příchutí koly, kde přežilo 83,97 % viabilních buněk z původního množství.

Ve vodě přežilo simulaci trávicího traktu 58,37 % viabilních buněk, v čaji jich přežilo 22,68 %, v pivu 22,44 %, v džusu 14,92 %. Nejméně jich přežilo v kávě, pouze 3,45 %. Pozitivní vliv na vysokou viabilitu probiotické směsi v kole měl nejspíš vysoký obsah cukrů, který sloužil jako zdroj energie. Na vysokou úmrtnost v prostředí kávy měla nejspíš vliv přítomnost kofeinu.

Počet všech viabilních buněk během trávení je zaznamenán v tabulce 9.

Výsledky získané průtokovou cytometrií se poněkud liší od výsledků získaných kultivační metodou. Lze předpokládat, že pro čiré nápoje je průtoková cytometrie přesnější pro stanovení počtu životaschopných buněk, avšak pro celkové srovnání všech nápojů i potravin používaných v předložené studii je nutné použít kultivační techniky. Vzorky zakalené či obsahující jakékoli částice nelze pomocí průtokové cytometrie analyzovat.

Tabulka 9: Viabilní buňky komerční směsi v nápoji a v průběhu trávicího procesu.

viabilní buňky komerční směsi (SM)								
	pH	před trávením	žaludek		střeva			%
			20 minut	120 minut	20minut	60 minut	180 minut	
voda	7	$2,02 \cdot 10^8$	$2,56 \cdot 10^8$	$1,93 \cdot 10^8$	$2,45 \cdot 10^8$	$1,49 \cdot 10^8$	$1,18 \cdot 10^8$	58,37
čaj	7	$9,73 \cdot 10^7$	$8,28 \cdot 10^7$	$1,02 \cdot 10^7$	$1,54 \cdot 10^6$	$5,45 \cdot 10^7$	$2,21 \cdot 10^7$	22,68
káva	6	$1,79 \cdot 10^8$	$2,43 \cdot 10^7$	$6,01 \cdot 10^5$	$1,19 \cdot 10^5$	$2,47 \cdot 10^7$	$6,17 \cdot 10^6$	3,45
kola	6	$4,01 \cdot 10^6$	$7,14 \cdot 10^6$	$5,41 \cdot 10^6$	$4,19 \cdot 10^6$	$1,78 \cdot 10^7$	$3,36 \cdot 10^6$	83,97
džus	3	$2,06 \cdot 10^7$	$9,28 \cdot 10^7$	$5,54 \cdot 10^6$	$5,62 \cdot 10^6$	$1,53 \cdot 10^7$	$3,07 \cdot 10^6$	14,92
pivo	5	$4,87 \cdot 10^6$	$7,94 \cdot 10^6$	$9,15 \cdot 10^6$	$6,19 \cdot 10^6$	$1,42 \cdot 10^7$	$1,09 \cdot 10^6$	22,44

5.2 Potraviny

Jako potravinové matrice studované z hlediska vlivu na viabilitu probiotik byli vybráni zástupci co nejširší škály výrobků. Vybrané potraviny byly rozděleny do 3 skupin. První skupinu tvoří polévky, ve druhé skupině jsou zástupci hlavních chodů a ve třetí skupině jsou zařazeny pochutiny.

5.2.1 Charakterizace potravin

Potraviny byly charakterizovány podle informací od výrobců na etiketách (viz příloha 1). U některých potravin, jako je např. rýže s kuřecím masem, rohlík, ovoce a zelenina, byly nutriční hodnoty určeny pomocí webové stránky zabývající se výživou a nutričními hodnotami potravin [65].

Veškeré nutriční hodnoty jsou zaznamenány Tabulka 10. Hodnoty pH byly zjištěny pomocí lakmusových pH papírků a jejich hodnoty se pohybovaly v rozmezí pH 5 – 7.

Tabulka 10: Nutriční hodnoty testovaných potravin a hodnota jejich pH

		Nutriční hodnoty ve 100 g					
		bílkoviny	cukry	tuky	sůl	vláknina	pH
polévky	hov. bujón	0,20	0,07	0,30	0,90	-	6
	hrášková	2,00	0,70	0,90	0,92	-	6
	knedličková	16,80	6,50	11,50	9,10	4,60	6
hlavní jídla	instant. těst	12,60	6,10	7,20	3,68	3,30	7
	hamburger	14,55	6,64	11,82	1,55		7
	rýže vařená	2,69	-	0,28	-	-	7
	kuřecí maso	28,90	-	3,00	-	-	
pochutiny	ovesná kaše	84,00	27,00	8,40	0,80	5,50	5
	chipsy	5,40	0,60	35,00	1,50	4,00	6
	nugeta	9,00	49,20	29,00	0,08	2,80	6
	rohlík	9,79	-	3,68	-	4,45	6
	jogurt	4,90	4,50	2,70	0,13	-	6
	puđink	2,80	12,00	2,00	0,20	-	7
	makovec	9,20	19,00	10,00	0,59	-	6
	vlašský salát	4,40	3,50	22,50	1,50	-	7
	jablko	0,37	10,98	0,40	-	3,14	7
	banán	1,20	19,06	0,24	-	2,05	
	rajče	1,00	-	0,20	-	1,20	6
	okurka	0,82	1,48	0,18	-	0,93	
	paprika bílá	1,00	-	0,00	-	2,00	

V první skupině, skupině polévek obsahovala nejvíce cukrů, tuků a bílkovin na 100 g potravin instantní knedličková polévka. Nejvíce zastoupeny byly bílkoviny 16,80 g. pH všech polévek mělo hodnotu 6.

Ve druhé skupině jsou zařazeny potraviny, které jsou klasifikovány jako hlavní jídla. V této skupině byly testovány hamburger, instantní těstoviny se smetanovou omáčkou a kuřecí maso s rýží. Nejvíce bílkovin je obsaženo v rýži s kuřecím masem 31,59 g a nejvíce cukrů 6,64 g a tuků 11,28 g bylo v hamburgeru. U většiny potravin z této skupiny bylo pH kolem 7.

Třetí skupina potravin je nejrozmanitější. Mezi zástupce této skupiny patří ovesná kaše, chipsy, nugeta, rohlík, pudink, makovec, vlašský salát, ovoce a zelenina. Ve 100 g potraviny vykazuje největší podíl bílkovin ovesná kaše 84,00 g, nejvíce cukrů obsahuje nugeta, nejvíce tuků je obsaženo v chipsech, stejně tak i nejvíce soli. Největší množství vlákniny je obsaženo v ovesné kaši. Hodnota pH se pohybuje v rozmezí 5-7.

5.2.2 Stanovení viability probiotických kultur v potravinách pomocí kultivační metody

Jako první byla vytvořena koncentrační řada, aby byly viabilní buňky vyrostlé na Petriho miskách přehledné a lépe se počítaly. Z koncentrační řady byla odebrána kultura naředěná na vybranou koncentraci a nanášena na misku před a po trávení. Probiotické bakterie se převážně řadí mezi anaeroby, proto byla zvolena metoda přelivu, aby byl omezen přístup kyslíku. Z koncentrační řady bylo vybráno ředění 10^4 .

Takto připravené misky byly inkubovány při 37 °C po dobu 48 hodin. Po inkubaci byly viabilní buňky spočítány a výsledky jsou zaznamenány v tabulce 11 až 19.

5.2.2.1 Polévky

Pro testování viability probiotik byly použity 3 druhy polévek - hovězí bujón, krémová hrášková polévka a instantní vývar s nudlemi a knedlíčky.

5.2.2.1.1 Viabilita rodu *Lactobacillus*

Nejvíce viabilních buněk *Lactobacillus acidophilus* přežilo v hráškové polévce (38,46 %). V hovězím bujónu jich přežilo 23,44 %. Nejnižší procento přeživších bylo v instantní knedličkové polévce 14,71 % (Tabulka 11). Takto nízké procentuální zastoupení viabilních buněk *Lactobacillus acidophilus* v polévkách je nejspíš způsobeno přítomností použitých antioxidantů a antimikrobiálními látkami ze směsí koření.

V knedličkové polévce je obsažen česnekový prášek. Česnek má velmi silné antimikrobiální účinky jak proti gramnegativním, tak i proti grampozitivním bakteriím. Je zde také použit rozmarýn jako antioxidant a použité množství soli je ze všech testovaných polévek nejvyšší. Sůl může působit na změnu osmotických jevů okolo buněk a tím zapříčinit jejich rozpad a smrt.

U bujónu a hráškové polévky může být úmrtnost buněk *Lactobacillus acidophilus* způsobena obsahem muškátového oříšku nebo soli nebo kvůli nedostatečnému obsahu sacharidů a tuku v polévce.

Všechny viabilní buňky byly zaznamenány v tabulce 11. Z dat v tabulce 11 je patrné, že ve všech polévkách přežil dostatečný počet viabilních buněk, aby byl zajištěn jejich pozitivní účinek na střevní trakt konzumenta.

Tabulka 11: Počet viabilních buněk rodu *Lactobacillus* ve vybraných polévkách

	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (LA)			
	pH	počet viabilních buněk před trávením	počet viabilních buněk po trávení	%
bujón	6	$1,28 \cdot 10^7$	$3,00 \cdot 10^6$	23,44
hrášková	6	$1,04 \cdot 10^7$	$4,00 \cdot 10^6$	38,46
knedlíčková	6	$1,36 \cdot 10^7$	$2,00 \cdot 10^6$	14,71

5.2.2.1.2 Viabilita rodu *Bifidobacter*

Počet viabilních buněk *Bifidobacterium breve*, které přežily simulované trávení, bylo nejvíce v hráškové polévce. V tomto vzorku přežilo 74,07 % buněk z původního počtu. V bujónu i knedlíčkové polévce přežilo podobné množství buněk; v hovězím bujónu 44,44 % a v knedlíčkové polévce 45,45 %.

Úmrtnost buněk *Bifidobacterium breve* byla nejspíš způsobena podobně jako u laktobacilů antimikrobiálními látkami obsaženými v česnekovém prášku nebo v ostatních složkách směsi koření. Také mohla být způsobena změnou izotonického prostředí v okolí buněk, protože v instantních polévkách je obsažen poměrně vysoký obsah solí.

Všechna množství viabilních buněk *Bifidobacterium breve* v polévkách jsou zaznamenány v tabulce 12.

Tabulka 12: Počet viabilních buněk rodu *Bifidobacter* ve vybraných polévkách

	<i>Bifidobacterium breve</i> (BB)			
	pH	počet viabilních buněk před trávením	počet viabilních buněk po trávení	%
bujón	6	$4,50 \cdot 10^6$	$2,00 \cdot 10^6$	44,44
hrášková	6	$2,70 \cdot 10^6$	$2,00 \cdot 10^6$	74,07
knedlíčková	6	$2,20 \cdot 10^6$	$1,00 \cdot 10^6$	45,45

5.2.2.1.3 Viabilita komerční směsi

V komerční směsi bylo po trávicím procesu přítomno dokonce více buněk, než bylo v polévce před trávením. To jen dokazuje, že probiotické kmeny bakterií, pokud jsou ve směsi, tak se navzájem pozitivně ovlivňují a nejspíš také chrání proti vlivům trávicích šťáv a enzymů. Také jsou v komerčních přípravcích obsažena prebiotika, která podporují růst probiotik.

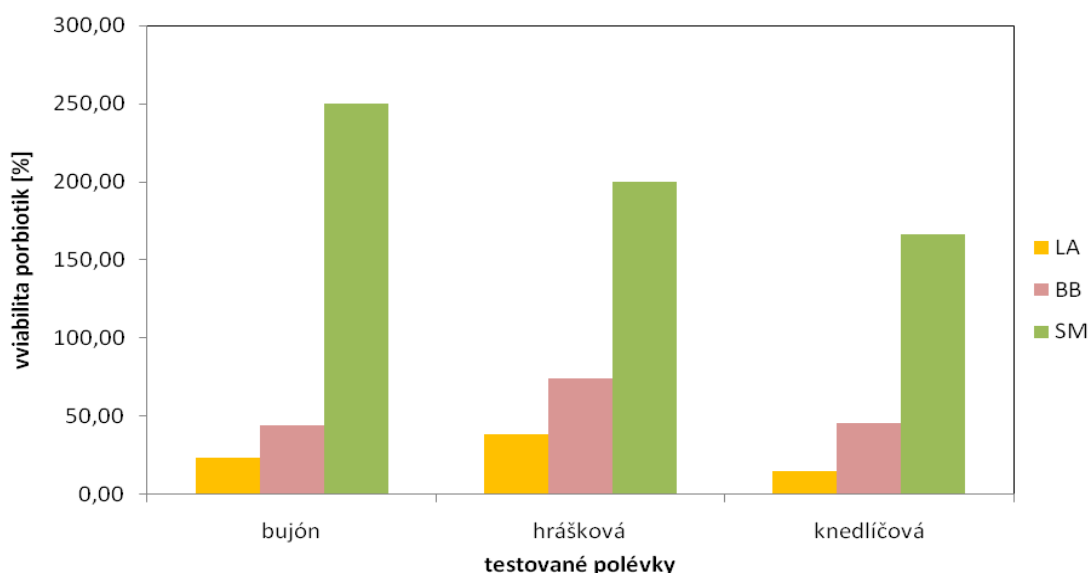
Největší množství viabilních buněk bylo v hovězím bujónu - 250 %. V hráškové polévce bylo 200 % viabilních buněk a v knedlíčkové polévce 166 % viabilních buněk.

Počty živých buněk před a po trávení jsou zaznamenány v tabulce 13.

Tabulka 13: Počet viabilních buněk komerční směsi ve vybraných polévkách

	<i>Komerční směs</i> (SM)			
	pH	počet viabilních buněk před trávením	počet viabilních buněk po trávení	%
bujón	6	$1,60 \cdot 10^6$	$4,00 \cdot 10^6$	250,00
hrášková	6	$1,00 \cdot 10^6$	$2,00 \cdot 10^6$	200,00
knedlíčková	6	$1,80 \cdot 10^6$	$3,00 \cdot 10^6$	166,67

viabilita probiotik v polévkách



Graf 2: Porovnání viability všech probiotických kmenů v polévkách

Z grafu 2 je patrné, že směsná kultura probiotických kmenů přežívala v polévkách lépe, než jednotlivé monokultury probiotických bakterií. Ve směsné kultuře jsou přítomné také prebiotika, která podporují růst probiotických bakterií. Probiotické kmeny ve směsích společně nejspíš kooperují a tím si pozitivně ovlivňují prostředí pro svůj život.

5.2.2.2 Hlavní chody

Do skupiny hlavní chody byly vybrány instantní těstoviny se smetanovou omáčkou, hamburger a kuřecí maso s rýží.

5.2.2.2.1 Viabilita rodu *Lactobacillus*

Nejvíce viabilních buněk druhu *Lactobacillus acidophilus* bylo po 20 minutové inkubaci v prostředí homogenizovaného hamburgeru zpracovaného, dle postupu v kapitole 4.5.1, $4,61 \cdot 10^8$. Trávicí proces přežilo pouze 6,14 % viabilních buněk. Jednou z možných variant, proč byla úmrtnost tak vysoká, je i zde přítomnost antimikrobiálních látek ze směsi koření. Je také možné, že kmen *Lactobacillus acidophilus* neměl příznivé podmínky pro rozmnožování a růst vlivem příliš kyselého prostředí v žaludeční šťávě. pH v žaludku se pohybovalo okolo hodnoty $\text{pH} = 3$. Také svou úlohu mohl sehrát obsah soli, která mohla narušit izotonické prostředí v okolí buňky.

Nejvíce buněk přežilo v instantních těstovinách - 194,82 %. Vyšší počet viabilních buněk bude nejpravděpodobněji způsoben přítomností sušeného mléka. Mléčné výrobky jsou totiž výborným prostředím pro růst probiotických bakterií. Důležitou roli také určitě sehrála přítomnost vlákniny, která do jisté míry mohla zastoupit prebiotika a poskytnout tak buňkám *Lactobacillus acidophilus* podporu během testování.

Ve směsi kuřecí maso s rýží byl počet živých buněk po trávicím procesu 164,92 %. Takto vysoké procento viabilních buněk bude nejspíš rovněž způsobeno vhodnými podmínkami při testování vlivem dobrého poměru nutričních látek v matici. Je zde také možnost, že tuková složka vytvořila okolo bakterií jakousi vrstvu, která probiotika ochránila při průchodu žaludkem. Když pak došlo k emulgaci tuků ve střevech vlivem žlučových solí, tak mohlo dojít k uvolnění probiotik v příznivějším prostředí, kde se mohly rozmnožit.

Bakterie *Lactobacillus acidophilus* dosahovaly v hlavních jídlech tak vysokých počtů viabilních buněk, o kterých se vědci domnívají, že mají příznivý účinek na zdraví konzumenta [25]. Počty viabilních buněk před a po trávení jsou zaznamenány v tabulce 14.

Tabulka 14: Počet viabilních buněk rodu *Lactobacillus* v hlavních jídlech

	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (LA)			
	pH	počet viabilních buněk před trávením	počet viabilních buněk po trávení	%
instant. těst	7	$2,57 \cdot 10^7$	$5,00 \cdot 10^7$	194,82
hamburger	7	$4,61 \cdot 10^8$	$2,83 \cdot 10^7$	6,14
rýže vařená	7	$4,03 \cdot 10^8$	$6,64 \cdot 10^8$	164,92
kuřecí maso				

5.2.2.2.2 Viabilita rodu *Bifidobacterium*

U druhu *Bifidobacterium breve* bylo nejvíce viabilních buněk po inkubaci v potravině obsaženo ve směsi kuřecího masa s rýží zpracované, dle postupu v kapitole 4.5.1, $1,23 \cdot 10^9$. Tak vysoký počet viabilních buněk způsobilo nejspíš vhodné pH potravy a dostatek živin. Po trávicím procesu byl sice počet viabilních buněk poloviční, avšak stále dostatečný, aby měly probiotické bakterie pozitivní vliv na lidský trávicí trakt. Na přibližně 50% úmrtnost mělo nejspíš vliv nízké pH = 3 v žaludku a neúplně anaerobní podmínky během inkubace v simulovaném prostředí trávicího traktu.

Nejvíce probiotických bakterií *Bifidobacterium breve* přežilo simulaci procesu trávení v instantních těstovinách - 190,36 %. Ve složení instantních těstovin se objevuje sušené mléko, které pravděpodobně vytváří vhodné prostředí pro růst probiotických bakterií. V těstovinách je také určité procento vlákniny, která může zastoupit prebiotika a podpořit tak růst buněk.

V hamburgeru přežilo simulaci trávení pouze 6,36 % buněk z původního množství $6,99 \cdot 10^8$. Takto nízké procento viabilních buněk bude způsobeno nevhodným poměrem nutrientů. Vliv na *Bifidobacterium breve* může mít i obsah soli, která způsobí narušení izotonického prostředí v okolí buněk, další možností je přítomnost antimikrobiálních látek z použité směsi koření.

Počet viabilních buněk před a po trávení jsou zaznamenány v tabulce 15. Počet viabilních buněk v hlavních jídlech je dostatečný, aby byl zajištěn jejich pozitivní vliv na GIT.

Tabulka 15: Počet viabilních buněk rodu *Bifidobacterium* v hlavních jídlech

	<i>Bifidobacterium breve</i> (BB)			
	pH	počet viabilních buněk před trávením	počet viabilních buněk po trávení	%
instant. těst	7	$1,87 \cdot 10^7$	$3,55 \cdot 10^7$	190,36
hamburger	7	$6,99 \cdot 10^8$	$4,44 \cdot 10^7$	6,36
rýže vařená	7	$1,23 \cdot 10^9$	$3,84 \cdot 10^8$	51,95
kuřecí maso				

5.2.2.2.3 Viabilita komerční směsi

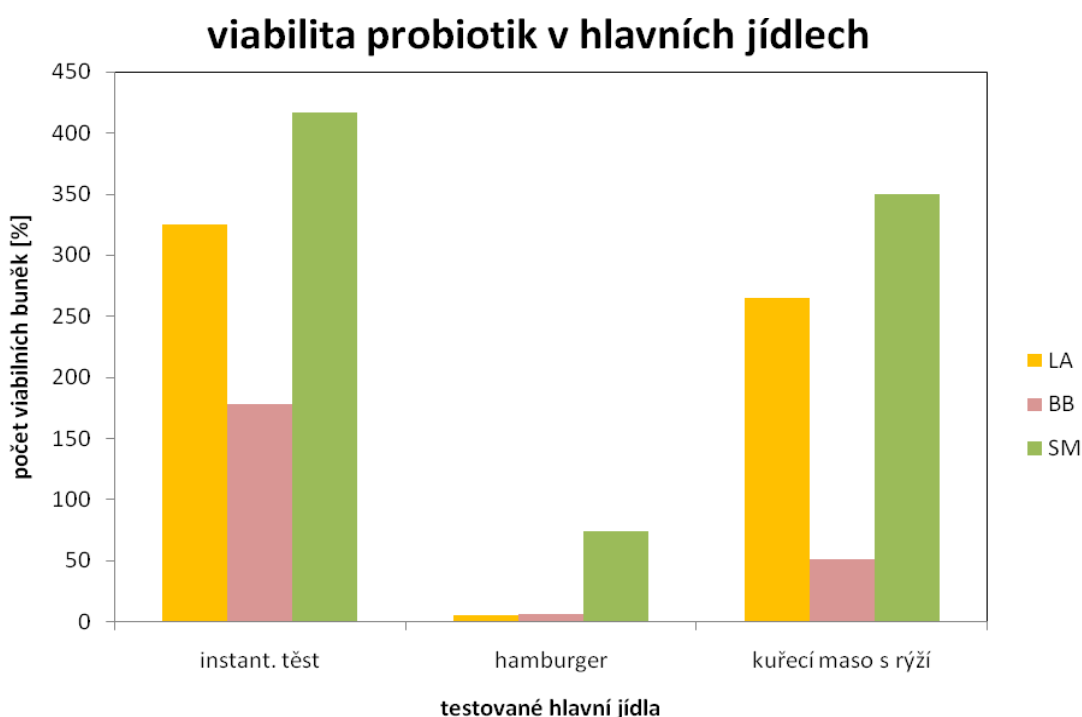
Směs probiotických bakterií obsažených v komerční směsi měla nejvíce viabilních buněk před trávením v hamburgeru, a to $2,23 \cdot 10^7$. Simulaci trávení přežilo 74,63 % buněk. V instantních těstovinách bylo procento přeživších buněk 416,67 %. K takovému nárůstu nejspíš přispěl obsah mléka v těstovinách. Ve směsi kuřecího masa s rýží bylo procento přeživších buněk po trávení 350 %.

Součástí komerční kapsle jsou také prebiotika, v tomto případě to byly fruktooligosacharidy. Tato důležitá složka mohla také pozitivně ovlivnit počet viabilních buněk v testovaných jídlech. K vysokým počtům viabilních buněk, také přispívá fakt, že se jedná o směs probiotických bakterií o specifických vlastnostech, které se mohou do jisté míry pozitivně ovlivňovat.

Bakterie komerční směsi dosahovaly v hlavních jídlech počtů viabilních buněk, o kterých se vědci domnívají, že mají příznivý účinek na zdraví konzumenta [25]. Počet viabilních buněk před a po trávení jsou zaznamenány tabulce 16.

Tabulka 16: Počet viabilních buněk komerční směsi v hlavních jídlech.

	<i>Komerční směs (SM)</i>			
	pH	počet viabilních buněk před trávením	počet viabilních buněk po trávení	%
instant. těst	7	$7,20 \cdot 10^6$	$1,60 \cdot 10^7$	416,67
hamburger	7	$2,23 \cdot 10^7$	$1,67 \cdot 10^7$	74,63
rýže vařená	7	$6,00 \cdot 10^6$	$2,10 \cdot 10^7$	350,00
kuřecí maso				



Graf 3: Porovnání viability všech probiotických kmenů v hlavních jídlech

Graf 3 znázorňuje procentuální množství přeživších buněk v hlavních jídlech. Lze vidět, že množství viabilních buněk je ve všech hlavních chodech nejvyšší u komerční směsi. Toto potvrzuje i zjištění z předchozích experimentů a dokládá, že směs probiotických bakterií jsou více odolné vůči vlivům matrice potravin a vlivům enzymů trávicích šťáv než probiotické monokultury.

5.2.2.3 Pochutiny

Skupina pochutin je nejrozmanitější testovanou skupinou. Je v ní zařazeno ovoce, zelenina, chipsy (hranolky), ovesná kaše, nugeta, rohlík, jogurt, pudink, makovec a vlašský salát.

Nutriční složení a pH potravin je charakterizováno v tabulce 5, specifitější charakteristika je uvedena v příloze 1.

5.2.2.3.1 Viabilita rodu *Lactobacillus*

Nejvyšší procento viabilních buněk *Lactobacillus acidophilus* bylo po 20minutové inkubaci v potravíně uchováno v chipsech $7,28 \cdot 10^8$, ovoci $6,59 \cdot 10^8$ a makovci $6,18 \cdot 10^8$.

Vlivům trávicích enzymů a šťáv nejlépe odolaly buňky *Lactobacillus acidophilus* v zeleninové směsi. Životaschopných buněk bylo v těchto podmínkách o 151,70 % více oproti původnímu množství. Rod *Lactobacillus* je velice náročný, co se týče obsahu nutričních látek v médiu. Směs rajčete, okurky a papriky zřejmě poskytovala dostatek těchto látek a v optimálním poměru pro růst probiotik. Také pH zeleninové směsi bylo optimální pro jejich růst - pH = 6 (Tabulka 17).

V ovesné kaši přežilo pouze 20,98 % viabilních buněk z původního množství $2,86 \cdot 10^7$ v potravíně. Z nutričních hodnot je zde nejvyšší podíl bílkovin, na úkor sacharidů. Jejich poměr je 4:1 (bílkoviny:sacharidy). Tento poměr může vést k nízké produkci energie z metabolismu sacharidů a tím omezit růst probiotických bakterií.

V chipsech bylo po simulovaném trávicím procesu o 51,65 % více viabilních buněk oproti původnímu množství $7,28 \cdot 10^8$ stanoveném po inkubaci v potravíně. V chipsech tvoří nejvyšší podíl nutričních hodnot tuky. Bylo prokázáno, že na viabilitu probiotických bakterií mají tuky, hlavně nenasycené mastné kyseliny, pozitivní vliv [66]. Tento aspekt pak mohl vést k nárůstu viabilních buněk *Lactobacillus acidophilus* ve směsi chipsů. Tento výsledek lze vztáhnout díky podobnému složení také na hranolky.

Nugeta obsahuje podíl tuků a cukrů v poměru 1:2. Pro probiotické bakterie je to velmi bohatý zdroj jak cukrů pro primární energetický metabolismus, tak i zdroj tuků, které chrání probiotika před nepříznivými podmínkami trávicího procesu a také pomáhají k jejich lepšímu přichycení na epitel střeva. Nugeta také obsahuje laktózu, sušené náhrady mléka a sušenou syrovátku. Mléčné složky také mohou podporovat příznivé podmínky na růst bakterií. V nugetě byl počet viabilních buněk po trávicím procesu $8,96 \cdot 10^8$, což je o 75,55 % více než před trávením.

Při testování viability buněk v rohlíku byl jejich počet před trávením $2,82 \cdot 10^8$. Trávicí proces přežilo pouze 35,51 % buněk. V rohlíku podle nutričního složení nejsou obsaženy žádné jednoduché cukry. Bez cukrů nemají probiotika žádný zdroj energie pro svůj růst.

Počet životaschopných buněk *Lactobacillus acidophilus* v jogurtu před trávením byl $3,06 \cdot 10^8$. Po trávicím procesu byl počet přeživších buněk pouze 16,36 %. Protože jogurt je výborným prostředím pro růst probiotických bakterií díky pH a poměru nutričních hodnot tuků, cukrů a bílkovin, mohlo počet viabilních buněk ovlivnit množství trávicích kyselin.

V čokoládovém pudinku byl počet viabilních buněk po trávení o 115,18 % vyšší než před ním. Nárůst počtu viabilních buněk byl nejspíš způsoben vysokým obsahem jednoduchých cukrů, které slouží jako zdroj energie pro růst buněk.

V makovci zůstal počet viabilních buněk před a po trávicím procesu víceméně stejný. Viabilitu pozitivně nejspíš ovlivňuje vhodné nutriční složení makovce. Poměr tuků a cukrů je 1:2,

což způsobuje, že buňky *Lactobacillus acidophilus* mají jak dostatečný přísun energie, tak jim také tuky poskytují ochranu před trávicími enzymy a šťávami.

Ve vlašském salátu přežilo trávicí proces 71,02 % viabilních buněk. Buňky *Lactobacillus acidophilus* mají díky nutričnímu složení dobrou ochranu díky obsahu tuků, ale kvůli nízkému obsahu sacharidů neměly buňky dostatek energie. Svou roli také mohl sehrát obsah soli, kdy došlo k narušení izotonického prostředí v okolí buněk.

V ovocné směsi jablka a banánu byl počet viabilních buněk před trávením $6,59 \cdot 10^8$. Trávicí proces přežilo pouze 3,49 % viabilních buněk. Takto vysoké procento úmrtnosti mohlo být způsobeno nízkým obsahem tuku, který by chránil buňky před nepříznivým prostředím trávicího traktu. Další variantou je přítomnost antioxidačních látek, případně tvorba nějakých nevhodných degradačních produktů v průběhu simulovaného trávení.

Počty viabilních buněk před a po trávení jsou zaznamenány společně s pH potravin v tabulce 17.

Tabulka 17: Počet viabilních buněk rodu *Lactobacillus* v pochutinách

	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (LA)			
	pH	počet viabilních buněk před trávením	počet viabilních buněk po trávení	%
ovesná kaše	5	$2,86 \cdot 10^7$	$6,00 \cdot 10^6$	20,98
chipsy	6	$7,28 \cdot 10^8$	$1,10 \cdot 10^9$	151,65
nugeta	6	$5,10 \cdot 10^8$	$8,96 \cdot 10^8$	175,55
rohlík	6	$2,82 \cdot 10^8$	$1,00 \cdot 10^8$	35,51
jogurt	6	$3,06 \cdot 10^8$	$5,00 \cdot 10^7$	16,36
pudink	7	$3,85 \cdot 10^8$	$8,28 \cdot 10^8$	215,18
makovec	6	$6,18 \cdot 10^8$	$6,20 \cdot 10^8$	100,39
vlašský salát	7	$2,46 \cdot 10^8$	$1,75 \cdot 10^8$	71,02
jablko	7	$6,59 \cdot 10^8$	$2,30 \cdot 10^7$	3,49
banán				
rajče	6	$1,47 \cdot 10^7$	$3,70 \cdot 10^7$	251,70
okurka				
paprika bílá				

5.2.2.3.2 Viabilita rodu *Bifidobacterium*

U druhu *Bifidobacterium breve* byl nejvyšší počet viabilních buněk prokázán po inkubaci v potravíně v ovoci $8,93 \cdot 10^8$, zelenině $7,17 \cdot 10^8$ a nugetě $6,86 \cdot 10^8$. Simulaci prostředí trávicího traktu přežilo nejvíce viabilních buněk inkubovaných v nugetě, chipsech a zeleninové směsi (Tabulka 18).

V ovesné kaši přežilo pouze 11,76 % viabilních buněk z původního počtu $1,70 \cdot 10^7$ v potravíně. Ovesná kaše není nejspíš úplně vhodnou matricí pro růst bifidobakterií, protože má nižší hodnotu pH = 5 než jaká se udává jako optimální, tedy v rozmezí od 6 – 7. Je také možné, že bifidobakterie nejsou schopné úplně využít polysacharidy obsažené v potravinách, protože preferují jako zdroj svých metabolických procesů spíše oligosacharidy.

Původní počet buněk v solených chipsech je $4,05 \cdot 10^8$. Po procesu trávení byla tato hodnota vyšší o 117,39 %. Probiotické buňky *Bifidobacterium breve* byly díky přítomnosti tuku chráněny před vlivem trávicích šťáv a je možné, že do jisté míry můžou nahradit jako zdroj energie nedostatek sacharidů v chipsech. To všechno může vést k podpoře růstu probiotických bakterií.

V nugetě bylo po inkubaci $6,86 \cdot 10^8$ viabilních buněk. Po trávicím procesu se tento počet zvýšil o 172,39 %. Vliv na růst probiotických bakterií mělo nejspíš ideální zastoupení nutrientů v nugetě. Největší podíl v nugetě zastupují sacharidy, které *Bifidobacterium breve* metabolizuje jako zdroj energie a vysoký obsah tuků, který chrání buňky před nepříznivými vlivy trávicího prostředí.

V prostředí rohlíku přežilo vystavení trávicímu traktu pouze 25,77 % viabilních buněk. V této matici nemají buňky žádný dostupný zdroj sacharidů, které by metabolizovaly na energii pro svůj růst. Ani obsah tuků nejspíš není tak vysoký, aby buňky *Bifidobacterium breve* ochránily před trávicími enzymy.

V jogurtu byl počet vitálních buněk před trávením $2,45 \cdot 10^8$. Vystavení buněk *Bifidobacterium breve* matici jogurtu přežilo překvapivě pouze 28,59 % viabilních buněk. Jogurt je velmi dobrým prostředím pro růst probiotických bakterií a tak vysoká úmrtnost nejspíš byla způsobena vyšší koncentrací přidaných trávicích šťáv nebo nebyly zabezpečeny dostatečné anaerobní podmínky při inkubaci probiotik v trávicích šťávách.

V čokoládovém pudinku byl počet viabilních buněk po trávicím procesu $9,60 \cdot 10^7$, což je 62,50 % z původního množství v potravíně. V pudinku je vysoký obsah dostupných cukrů, které mohly být metabolizovány a využity pro růst.

V makovci mají buňky *Bifidobacterium breve* dobré nutriční poměry cukrů a tuku 2:1. Sacharidy slouží jako zdroj energie pro růst a rozmnožování buněk a tuky tyto buňky chrání před nepříznivými vlivy trávicích kyselin a enzymů. Proto také přežilo simulaci trávicího traktu 80,85 % viabilních buněk.

Ve vlašském salátu bylo po inkubaci v potravíně obsaženo $5,18 \cdot 10^8$ buněk. Během trávení přežilo v tomto prostředí pouze 10,61 % viabilních buněk. Vliv na úmrtnost buněk mohl mít nedostatek obsahu sacharidů v matici, nebo roli může hrát i narušení izotonického v okolí buněk vlivem soli.

V ovocné směsi jablka a banánu bylo $2,80 \cdot 10^7$ viabilních buněk po trávicím procesu, což jsou pouze 3,14 % z původního množství, které bylo obsaženo v potravíně. Takto vysokou úmrtnost mohl způsobit nízký obsah tuků, který by chránily buňky před trávicími šťávami nebo přítomnost antioxidačních látek v ovoci.

Počty viabilních buněk před a po trávení jsou zaznamenány společně s pH potravin v tabulce 18.

Tabulka 18: Počet viabilních buněk rodu *Bifidobacterium* v pochutinách

	<i>Bifidobacterium breve</i> (BB)			
	pH	počet viabilních buněk před trávením	počet viabilních buněk po trávení	%
ovesná kaše	5	$1,70 \cdot 10^7$	$2,00 \cdot 10^6$	11,76
chipsy	6	$4,05 \cdot 10^8$	$8,80 \cdot 10^8$	217,39
nugeta	6	$6,86 \cdot 10^8$	$1,87 \cdot 10^9$	272,73
rohlík	6	$1,55 \cdot 10^8$	$4,00 \cdot 10^7$	25,77
jogurt	6	$2,45 \cdot 10^8$	$7,00 \cdot 10^7$	28,59
pudink	7	$1,54 \cdot 10^8$	$9,60 \cdot 10^7$	62,50
makovec	6	$3,22 \cdot 10^8$	$2,60 \cdot 10^8$	80,85
vlašský salát	7	$5,18 \cdot 10^8$	$5,50 \cdot 10^7$	10,61
jablko	7	$8,93 \cdot 10^8$	$2,80 \cdot 10^7$	3,14
banán				
rajče	6	$7,17 \cdot 10^8$	$7,80 \cdot 10^8$	108,76
okurka				
paprika bílá				

5.2.2.3.3 Viabilita komerční směsi probiotik

Největší množství viabilních probiotických bakterií komerční směsi bylo u rohlíku $1,24 \cdot 10^7$ a v makovci $3,92 \cdot 10^7$. Ale procenta viabilních buněk po průchodu simulovaným trávicím traktem v těchto potravinách byla nízká, v rohlíku bylo procento viabilních buněk ve srovnání s ostatními testovanými potravinami pouze 96,77 % a v makovci toto procento bylo pouze 91,84 %. Trávicí proces viabilní buňky v těchto potravinách přežily skoro všechny. Největší vliv na přežití buněk v rohlíku má obsah tuku a možná i přítomnost vlákniny, která by mohla stejně jako tuky ochránit viabilní buňky před působením trávicích enzymů a kyseliny chlorovodíkové. Nezanedbatelný vliv má v tomto případě směs probiotických kmenů. U makovce bude mít vliv na přežívání probiotik v trávicím traktu hlavně poměr tuků a cukrů, které si směs kultur mohla využít jako zdroj energie pro své přežití a tuky jako ochranu před nepříznivými vlivy trávicího traktu (Tabulka 19).

V ovesné kaši přežilo trávení pouze 55,56 % viabilních buněk z původního množství $1,80 \cdot 10^6$ buněk. Úbytek viabilních buněk mohl způsobit vysoký rozdíl mezi cukry a tuky, kdy sice buňky měly dostatek zdrojů energie ve formě cukrů pro svůj růst, ale v trávicím traktu byly vystaveny neúměrným koncentracím trávicích šťáv a nízký obsah tuků je všechny neochránil před těmito vlivy.

Nejvyšší počet viabilních buněk v pochutinách, které prošly trávicím traktem, byl prokázán v nugetě 394 %, zeleninové směsi 300 % a ve vlašském salátu 269,23 %.

Nugeta je velmi dobrá matrice pro životaschopnost probiotických bakterií, díky poměru cukrů a tuků obsažených v potravinách. Nugeta má také optimální prostředí pH = 6 pro růst bakterií. V nugetě je obsaženo skoro 50 g sacharidů, které mohou probiotické organismy metabolizovat a využít jako zdroj energie. Tuková složka nugety tyto probiotické bakterie chrání před podmínkami trávicího traktu. V nugetě jsou také obsaženy složky mléka - laktóza, sušená

syrovátka a práškové náhrady mléka, což mohlo taky přispět ke zlepšení podmínek pro růst bakterií.

Také v případě zeleninové směsi bylo procento přeživších buněk vysoké. Během trávicího procesu se počet buněk ztrojnásobil. Růst probiotik v zeleninové směsi může být způsoben optimálním pH prostředí (pH = 6). Vliv může mít také obsah vlákniny, která může společně s prebiotiky pozitivně ovlivnit probiotické bakterie v trávicím traktu.

Ve vlašském salátu počet viabilních buněk vzrostl o 169,23 % oproti původnímu počtu buněk v potravine $2,60 \cdot 10^6$. Obsah cukrů je poměrně nízký, ale probiotika v komerčních směsích mohou využít jako zdroj energie pro růst prebiotika. U vlašského salátu je vysoký obsah tuků, které působí jako ochrana proti nepříznivým vlivům trávicích enzymů a kyseliny chlorovodíkové.

V čokoládovém pudinku se počet životaschopných buněk během trávicího procesu zvýšil o 140 %. Jako jedna ze složek jak šlehačky, tak i samotného pudinku je mléko, které poskytuje probiotikům dobré prostředí pro růst. V kombinaci s vysokým obsahem cukrů poskytují velmi dobré prostředí pro životaschopnost a růst bakterií.

V chipsech byl počet buněk před trávením $8,80 \cdot 10^6$ viabilních buněk. Po trávicím procesu vzrostl počet o 127,27 %. V chipsech tvoří nejvyšší podíl tuky. Bylo prokázáno, že na viabilitu probiotických bakterií mají tuky, hlavně nenasycené mastné kyseliny, pozitivní vliv, což může vést k rozmnožení probiotických bakterií [66].

V ovocné směsi jablka a banánu byl nárůst probiotických bakterií po trávicím procesu o 119,51 %. Ovocná směs obsahuje vysoký obsah vlákniny a cukrů a v kombinaci s prebiotiky obsaženými v komerční směsi jsou tyto podmínky dobré pro růst a viabilitu probiotik.

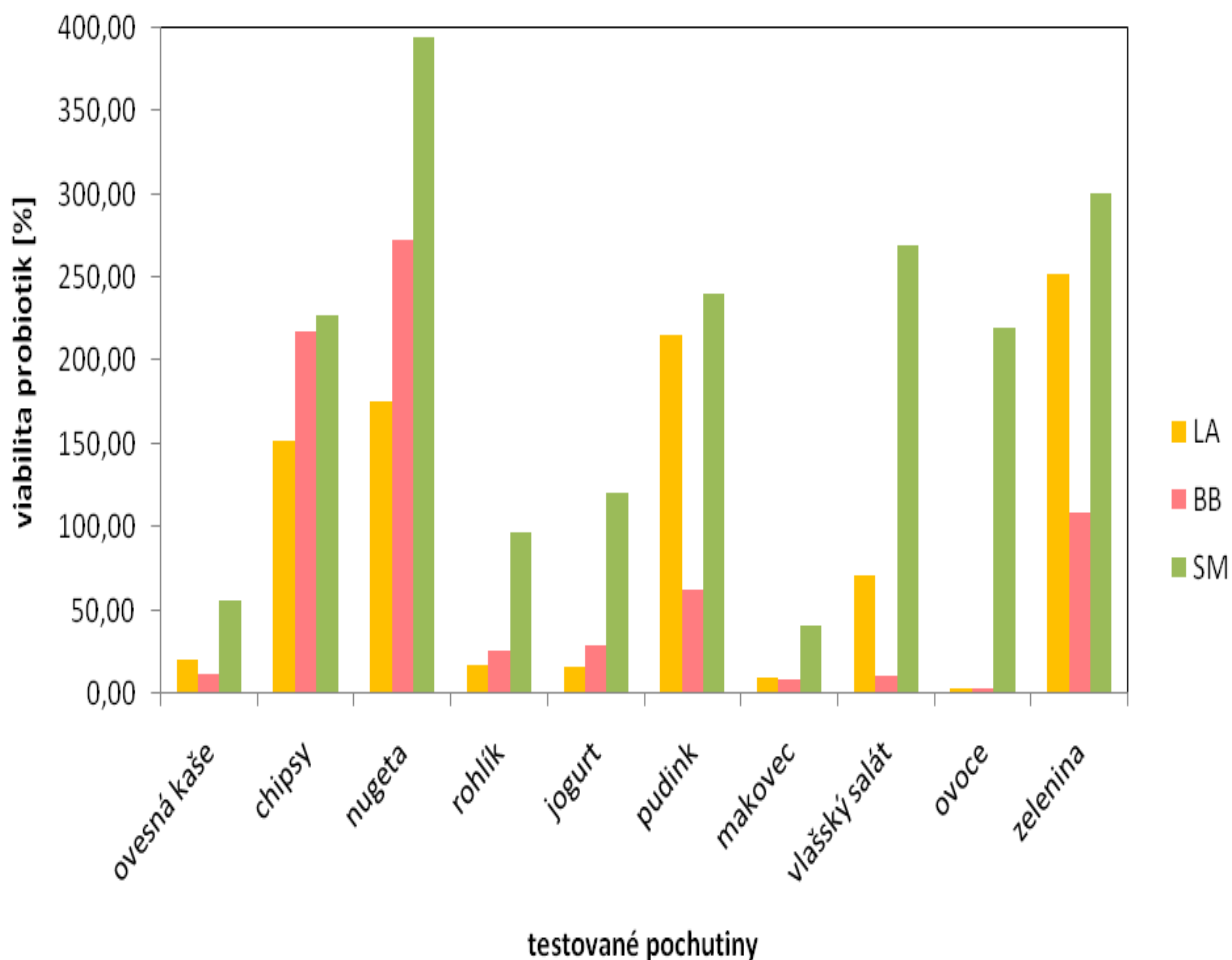
Jogurt a fermentované mléčné výrobky jsou vhodným prostředím pro probiotické bakterie. Počet buněk směsné kultury vzrostl o 20 %, což to jen potvrzuje.

Počet viabilních buněk před a po trávicím procesu jsou zaznamenány v tabulce 19.

Tabulka 19: Počet viabilních buněk komerční směsi v pochutinách

	<i>Komerční směs (SM)</i>			
	pH	počet viabilních buněk před trávením	počet viabilních buněk po trávení	%
ovesná kaše	5	$1,80 \cdot 10^6$	$1,00 \cdot 10^6$	55,56
chipsy	6	$8,80 \cdot 10^6$	$2,00 \cdot 10^7$	227,27
nugeta	6	$7,60 \cdot 10^6$	$3,00 \cdot 10^7$	394,74
rohlík	6	$1,24 \cdot 10^7$	$1,20 \cdot 10^7$	96,77
jogurt	6	$5,80 \cdot 10^6$	$7,00 \cdot 10^6$	120,69
pudink	7	$5,40 \cdot 10^6$	$1,30 \cdot 10^7$	240,74
makovec	6	$3,92 \cdot 10^7$	$3,60 \cdot 10^7$	91,84
vlašský salát	7	$2,60 \cdot 10^6$	$7,00 \cdot 10^6$	269,23
jablko	7	$8,20 \cdot 10^6$	$1,80 \cdot 10^7$	219,51
banán				
rajče	6	$4,00 \cdot 10^6$	$1,20 \cdot 10^7$	300,00
okurka				
paprika bílá				

viabilita probiotik v pochutinách



Graf 4: Porovnání viability všech testovaných probiotických kmenů v pochutinách

Graf 4 shrnuje a srovnává procentuální obsah viabilních buněk všech testovaných monokultur i směsné kultury v pochutinách. Ve všech případech měly směsné kultury podstatně vyšší stupeň viability ve srovnání s monokulturami. To jen potvrzuje, že směsné kultury jsou mnohem odolnější než samostatné monokultury.

6 Závěr

Cílem této práce bylo otestovat co nejširší spektrum potravinových výrobků a určit jejich vliv na viabilitu a růst probiotických bakterií *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium breve* a komerční směsi 9 probiotických kmenů. Účelem práce je pokusit se navrhnout na základě zjištěných výsledků vhodné potravinové matrice, které poskytnou probiotikům optimální podmínky pro jejich růst a možnou ochranu před vlivy trávicího systému. Výstupem pak by mohlo být doporučení ohledně nejvhodnějšího způsobu podávání probiotik ve vztahu ke stravovacímu režimu a složení potravy.

Teoretická část je zaměřena na popis lidského trávicího traktu, jeho funkce, trávicí procesy probíhající u základních složek potravin, jako jsou tuky, bílkoviny a sacharidy a také se zabývá mikrobiálním osídlením trávicí soustavy. Dále jsou v teoretické části uvedeny informace o probiotických bakteriích, jejich charakterizace se zaměřením na použité kmeny *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium breve*, mechanismus jejich účinků na hostitelské prostředí střevního traktu a také vlivy matrice potravin na probiotika.

V experimentální části byly vybrány sestavy nápojů a různých typů běžných potravin. Testované nápoje a potraviny zaočkovány probiotickými monokulturami *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium breve* a také komerční směsí, která obsahovala 9 kmenů probiotických bakterií - *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus lactis* a *Streptococcus thermophilus* a přídavek prebiotik. Následně byly kmeny inkubovány po dobu 20 minut v prostředí příslušné potraviny či nápoje a kultivovány na MRS médiu po dobu 48 hodin. Testované výrobky byly rozděleny do následujících skupin: nápoje, polévky, hlavní chody a pochutiny.

Ve všech nápojích bylo nejvíce viabilních buněk zaznamenáno při testování komerční směsi. U probiotických buněk komerční směsi byl zaznamenán nejvyšší nárůst živých buněk v prostředí koly a mléka. Zde bylo naměřeno 315,79 % viabilních buněk z původního množství v potravine. Tyto výsledky byly ověřeny pomocí průtokové cytometrie, která potvrdila, že probiotické bakterie z komerční směsi nejlépe prosperují v matrici takového nápoje, ve kterém je obsažen dostatek cukru (kola). Mléko je pak všeobecně známým vhodným prostředím pro probiotické bakterie. Z použitých monokultur *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium breve* inkubaci v prostředí nápojů lépe snášel zástupce rodu *Lactobacillus*, ale průchod trávicím traktem přežilo více probiotik rodu *Bifidobacterium*. Toto tvrzení ale neplatí u mléka, kde celý proces testování přežilo více buněk rodu *Lactobacillus*. Rod *Lactobacillus* je náročnější na obsah živin v prostředí, tím si může vyčerpat živiny již při inkubaci v nápoji a během trávicího procesu nemá dostatek živin a hyne.

Druhou skupinou testovaných potravin byly polévky. Ve všech testovaných polévkách byl, stejně jako u nápojů, pozorován nejvyšší počet viabilních buněk u testované komerční směsi. Nejvyšší procentuální zastoupení viabilních probiotických buněk z komerční směsi bylo nalezeno v hovězím bujónu. Jejich nárůst během trávicího procesu byl oproti původnímu množství viabilních buněk v potravine o 150 % vyšší. Když porovnáme viabilitu monokultur v testovaných polévkách, tak zjistíme, že o 40 % vyšší počet viabilních buněk po trávicím procesu byl naměřen u *Bifidobacterium breve* ve srovnání s *Lactobacillus acidophilus*. Nejlepším prostředím pro obě monokultury byla instantní hrášková polévka.

V další skupině testovaných potravin typu hlavních jídel se nachází hamburger, instantní testoviny s omáčkou a kuřecí maso s rýží. Také v této skupině dominovala mírou viability komerční směs probiotických bakterií, u které byly počty viabilních buněk nejvyšší ve všech potravinách této skupiny. Nejvyšší počet viabilních buněk komerční směsi byl zaznamenán u instantních těstovin, a to 416,67 % oproti původnímu množství viabilních buněk v potravině. Naopak nejnižší počet viabilních buněk byl zaznamenán u hamburgeru, 74,63 %. U monokultur *Lactobacillus acidophilus* a *Bifidobacterium breve* byl vysoký nárůst viabilních buněk během kultivace také u instantních těstovin. Procentuální zastoupení viabilních buněk bylo podobné u obou použitých monokultur a pohybovalo se okolo 190 %.

Poslední testovanou skupinou byla skupina pochutin, která byla, co se vybraných výrobků týče, nejrozmanitější. Ve všech těchto výrobcích byl rovněž zaznamenán nejvyšší nárůst viabilních buněk během inkubace u komerční směsi probiotik. Nejvyšší počet viabilních buněk směsi probiotických kultur po vystavení simulovanému procesu trávení byl u nugety 394,74 %. Dobře se také dařilo směsné kultuře probiotik i v zeleninové směsi. Počet viabilních buněk byl po trávení 3krát vyšší, než bylo původní osídlení po inkubaci probiotik v potravině. V prostředí nugety byl zaznamenán u *Lactobacillus acidophilus* nárůst viabilních buněk o 75 % a v prostředí chipsů byl tento nárůst o 51 %. Nejvyšší procenta viabilních buněk *Lactobacillus acidophilus* byly nalezeny u matrice čokoládový pudink - 215,18 % a zeleninová směs - 251,70 %. Buňkám rodu *Bifidobacterium breve* se nejlépe dařilo při kultivaci v matricích nugetě a chipsech. Zaznamenaný nárůst viabilních buněk *B.breve* byl oproti druhé testované monokultuře *Lactobacillus acidophilus* v těchto prostředích podstatně vyšší. V chipsech byl počet viabilních buněk 217,73 % a v nugetě byl nárůst životaschopných buněk 272,73 %.

Závěrem lze shrnout, že jako nejlepší kombinace probiotik a potravin se jeví kombinace směsi probiotických kultur s instantními těstovinami nebo s nugetou. V kombinaci s nápojem se jako nejlepší možnost jeví směsná kultura probiotik s mlékem, a to z důvodu vysoké viability buněk po průchodu trávicím traktem.

Naopak nejhorší vliv vykazovala kombinace probiotické monokultury s ovocnou směsí, hamburgerem, kávou nebo džusem, protože došlo k nejvyššímu úhynu probiotických buněk.

Na základě získaných výsledků lze také říci, že směsné kultury probiotik mají výrazně vyšší schopnost přežít průchod trávicím traktem, a to jak v kombinaci s nápojem, tak i s potravinou a jsou vhodnější jako součást funkčních potravin než samotné monokultury.

Pokud jde o výživová doporučení, tak kromě doporučení užívat směsné probiotické kultury lze uzavřít, že probiotické mikroorganismy je lepší konzumovat během jídla než jen s nápojem. Nárůst buněk probiotických kultur byl pozorován zejména u takových potravin, které obsahovaly vyšší obsah cukrů a tuků nebo jejich vhodnou kombinaci.

7 Zdroje

- [1] KITTNAR, Otomar. *Lékařská fyziologie*. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3068-4.
- [2] JAVORKA, Kamil. *Lekárska fyziológia: učebnica pre lekárske fakulty*. Martin: Osveta, 2001. Vysokoškolské učebnice (Osveta). ISBN 80-8063-023-2.
- [3] ČIHÁK, Radomír. Anatomie. Třetí, upravené a doplněné vydání. Ilustroval Ivan HELEKAL, ilustroval Jan KACVINSKÝ, ilustroval Stanislav MACHÁČEK. Praha: Grada, 2016. ISBN 978-80-247-4788-0.
- [4] NOVOTNÝ, Ivan a Michal HRUŠKA. *Biologie člověka pro gymnázia: učebnice pro gymnázia a další střední školy*. Praha: Fortuna, 1995. ISBN 80-7168-234-9.
- [5] SILBERNAGL, Stefan a Agamemnon DESPOPOULOS. *Atlas fyziologie člověka*. 6. vyd., zcela přeprac. a rozš., Vyd. 3. české. Praha: Grada, 2004. ISBN 978-80-247-0630-6.
- [6] KOOLMAN, Jan a Klaus-Heinrich RÖHM. *Barevný atlas biochemie*. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-2977-0
- [7] MURRAY, R. K. Harperova biochemie. 4. vyd. Praha: H & H, 2002. A Lange medical book. ISBN 8073190133.
- [8] KOHOUT, P. Probiotika v rukou praktického lékaře. *Medicína pro praxi*, 2009, 6.3: 135-139.
- [9] ZBOŘIL, Vladimír. *Mikroflóra trávicího traktu: klinické souvislosti*. Praha: Grada, 2005. ISBN 80-247-0584-2
- [10] FRÍČ P. Probiotika a prebiotika – renesance terapeutického principu. *Postgraduální medicína* 2005; 7(5): 472–477. 3.
- [11] MCGHEE JR, STROBER W. Mucosal immune responses: an overview. *Mucosal Immunology*. San Diego: Academic Press 1999: 485–501
- [12] VERHOEF-VERHAGE EA, SCHAAFSMA G, et al. A guide to the intestinal microflora. Yakult Nederland B.V. In: *Inside story*, 1996: 11–46
- [13] OJETTI, V., GIGANTE, G., AINORA, M. E., FIORE, F., BARBARO, F., GASBARRINI, A. Microflora imbalance and gastrointestinal diseases. *Digestive and Liver Disease Supplements* 3, 35-39, 2009
- [14] UHLÍK, ONDŘEJ, et al. Identifikace a charakterizace bakterií s bioremediačním potenciálem od kultivace k metagenomice. *Chemické. Listy*, 2013, 107: 614-622.
- [15] BOUGHNER, Lisa A.; SINGH, Pallavi. Microbial Ecology: Where are we now?. *Postdoc Journal: a journal of postdoctoral research and postdoctoral affairs*, 2016, 4.11: 3.

- [16] FLOCH, Martin, Yehuda RINGEL a W. Allen WALKER. The microbiota in gastrointestinal pathophysiology: implications for human health, prebiotics, probiotics, and dysbiosis. Academic Press, 2016. ISBN 9780128040249.
- [17] VAN DEN ELSEN, Lieke Wj, et al. Embracing the gut microbiota: the new frontier for inflammatory and infectious diseases. *Clinical & Translational Immunology*, 2017, 6.1: e125.
- [18] SALAZAR, Nuria, et al. The human intestinal microbiome at extreme ages of life. Dietary intervention as a way to counteract alterations. *Frontiers in Genetics*, 2014, 5: 406.
- [19] BULL, Matthew J.; PLUMMER, Nigel T. Part 1: The Human Gut Microbiome in Health and Disease. *Integrative Medicine (Encinitas, Calif.)*, 2014, 13.6: 17-22.
- [20] LATA, Jan; JURÁNKOVÁ, Jana. Střevní mikroflóra, slizniční bariéra a probiotika u některých interních chorob. *Interní Med*, 2011, 13.2: 63-69.
- [21] KREJSEK CSC, Jan, et al. Nutrice, probiotika a imunitní systém II. část: Nutrice, přirozená slizniční mikroflóra a individuální imunitní reaktivita. *Pediatric pro praxi*, 2007, 8.3: 156-162.c
- [22] SENOK, A. C.; ISMAEEL, A. Y.; BOTTA, G. A. Probiotics: facts and myths. *Clinical Microbiology and Infection*, 2005, 11.12: 958-966.
- [23] QUIGLEY, Eamonn Martin. Gut bacteria in health and disease. *Gastroenterology & Hepatology*, (NY), 2013, 9.9: 560-569.
- [24] FAO, WHO. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina, 1–4 October 2001.
- [25] KOHOUT, P. Probiotika v rukou praktického lékaře. *Medicína pro praxi*, 2009, 6.3: 135-139.
- [26] NEVORAL, Jiří. Prebiotika, probiotika a synbiotika. *Pediatric pro praxi*, 2005, roč. 8, č. 2, s. 59-65. Dostupné z: <http://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2005/02/02.pdf>
- [27] ŠPELINA, V.; WINKLEROVÁ, D. Principy hodnocení účinnosti a bezpečnosti probiotik a charakteristika registrovaných doplňků stravy s obsahem probiotik a prebiotik. *Pediatric pro praxi*, 2009, 10.4: 247-250, [cit. 2017-4-17] Dostupné z: <http://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/.pdf>
- [28] GÖRNER, F., VALÍK, L., *Aplikovaná mikrobiologie požívání*, Bratislava: Malé centrum, 2004. 528 s. první vydání, ISBN 80-967064-9-7.
- [29] COOK, M. T., G. TZORTZIS, D. CH. VITALIY ,V. KHUTORYANSKIY. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *Journal of Controlled Release*. 2012, 162(1): 56-67. DOI: 10.1016/j.jconrel.2012.06.003

- [30] NAYAK, Sukanta Kumar. Biology of eukaryotic probiotics. In: Probiotics. Springer Berlin Heidelberg, 2011. p. 29-55.
- [31] KECHAGIA, Maria, et al. Health benefits of probiotics: a review. ISRN Nutrition, 2013, 2013.
- [32] RIVERA-ESPINOZA, Yadira; GALLARDO-NAVARRO, Yoja. Non-dairy probiotic products. Food Microbiology, 2010, 27.1: 1-11.
- [33] WOHLGEMUTH, S., G. LOH and M. BLAUT. Recent developments and perspectives in the investigation of probiotic effects. International Journal of Medical Microbiology. 2010, 300(1):3-10. DOI: 10.1016/j.ijmm.2009.08.003.
- [34] RANADHEERA, R.D.C.S., S.K. BAINES and M.C. ADAMS. Importance of food in probiotic efficacy. Food Research International. 2010, 43(1) 1-7. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.09.009.
- [35] Redakce Encyklopedie Britannica. Lactobacillus. Encyklopedie Britannica [online]. Encyklopedie Britannica, 2010 [cit. 2017-04-21]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/Lactobacillus>
- [36] RIVIÈRE, Audrey, et al. Bifidobacteria and butyrate-producing colon Bacteria: Importance and strategies for their stimulation in the human gut. Frontiers in Microbiology, 2016, 7.
- [37] Mystical Biotech: Lactobacillus family [online]. In: . [cit. 2017-04-21]. Dostupné z: <http://www.mysticalbiotech.com/product/probiotics/lactobacillus-family/>
- [38] CAPLIN, Maya. Bifidobacterium Breve: Know the Facts [online]. In: . [cit. 2017-04-21]. Dostupné z: <https://probioticsamerica.com/bifidobacterium-breve/>
- [39] O'TOOLE, PW, COONEY JC. Probiotic bacteria influence the composition and function of the intestinal microbiota. Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases. 2008;175285.
- [40] KHALIGHI, Amirreza; BEHDANI, Reza; KOUHESTANI, Shabnam. Probiotics: A Comprehensive Review of Their Classification, Mode of Action and Role in Human Nutrition. In: Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health. InTech, 2016.
- [41] Hawrelak J, BNat(Hons). Probiotics. In: Pizzorno JE, Murray MT, editors. Textbook of Natural Medicine. 4th ed. St. Louis, Missouri: Churchill Livingstone Elsevier; 2013. p. 979–94.
- [42] FULLER, R, GIBSON, GR. Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. Scandinavian Journal of Gastroenterology Supplement. 1997;222:28–31.

- [43] BERMUDEZ-BRITO, Miriam, et al. Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 2012, 61.2: 160-174.
- [44] OHLAND, Christina L.; MACNAUGHTON, Wallace K. Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2010, 298.6: G807-G819.
- [45] Hawrelak J, BNat(Hons). Probiotics. In: Pizzorno JE, Murray MT, editors. *Textbook of Natural Medicine*. 4th ed. St. Louis, Missouri: Churchill Livingstone Elsevier; 2013. p. 979–94.
- [46] JUVEN, BJ, MEINERSMANN, RJ, STERN, NJ. Antagonistic effects of lactobacilli and pediococci to control intestinal colonization by human enteropathogens in live poultry. *The Journal of Applied Bacteriology*. 1991;70(2):95–103.
- [47] NIELSEN, DS, CHO, GS, HANAK, A, HUCH, M, FRANZ, CM, ARNEBORG, N: The effect of bacteriocin-producing *Lactobacillus plantarum* strains on the intracellular pH of sessile and planktonic *Listeria monocytogenes* single cells. *Int J Food Microbiology* 2010;141:S53–S59.
- [48] HASSAN, M, KJOS, M, NES, IF, DIEP, DB, LOTFIPOUR, F: Natural antimicrobial peptides from bacteria: characteristics and potential applications to fight against antibiotic resistance. *J Appl Microbiology*. 2012, DOI: 10.1111/j.1365-2672.2012.05338.
- [49] BIERBAUM, G, Sahl: Lantibiotics: mode of action, biosynthesis and bioengineering. *Curr Pharm Biotechnol* 2009;10:2–18.
- [50] O'SHEA, EF, Cotter PD, Stanton C, Ross RP, Hill C: Production of bioactive substances by intestinal bacteria as a basis for explaining probiotic mechanisms: bacteriocins and conjugated linoleic acid. *Int J Food Microbiology* 2012;152:189–205.
- [51] MISHRA, C, LAMBERT, J. Production of anti-microbial substances by probiotics. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 1996;5(1):20–4.
- [52] MACOUZET, M, Lee BH, Robert N: Production of conjugated linoleic acid by probiotic *Lactobacillus acidophilus* La-5. *J Appl Microbiology* 2009;106:1886–1891.
- [53] GU, Qing; LI, Ping. Biosynthesis of Vitamins by Probiotic Bacteria. In: *Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health*. InTech, 2016.
- [54] BEZKOROVAINY, Anatoly. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. *The American journal of clinical nutrition*, 2001, 73.2: 399s-405s.
- [55] VASILJEVIC, Todor; SHAH, Nagendra P. Probiotics—from Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, 2008, 18.7: 714-728.

- [56] ISOLAURI, Erika. Probiotics in preterm infants: a controversial issue. *Journal of Pediatric gastroenterology and nutrition*, 2007, 45: S188-S189.
- [57] SAARELA, Maria, et al. Stability and functionality of freeze-dried probiotic *Bifidobacterium* cells during storage in juice and milk. *International Dairy Journal*, 2006, 16.12: 1477-1482.
- [58] CANO-LAMADRID, M., et al. Anthocyanins decay in pomegranate enriched fermented milks as a function of bacterial strain and processing conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 2017, 80: 193-199.
- [59] VINDEROLA, C. G., et al. Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 2002, 12.7: 579-589.
- [60] GUMIENNA, Małgorzata; SZWENGIEL, Artur; GÓRNA, Barbara. Bioactive components of pomegranate fruit and their transformation by fermentation processes. *European Food Research and Technology*, 2016, 242.5: 631-640.
- [61] SHEEHAN, Vivien M.; ROSS, P.; FITZGERALD, Gerald F. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2007, 8.2: 279-284.
- [62] SHORI, Amal Bakr. Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. *Food Bioscience*, 2016, 13: 1-8.
- [63] ESPITIA, Paula JP, et al. Probiotics and their potential applications in active edible films and coatings. *Food Research International*, 2016, 90: 42-52.
- [64] DO ESPIRITO SANTO, Ana Paula, et al. Influence of food matrices on probiotic viability—A review focusing on the fruity bases. *Trends in Food Science & Technology*, 2011, 22.7: 377-385.
- [65] BURGAIN, J., et al. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 2011, 104.4: 467-483.
- [66] ERATTE, D., McKNIGHT, S., GENGENBACH, T. R., DOWLING, K., BARROW, C. J., & ADHIKARI, B. P., Co-encapsulation and characterisation of omega-3 fatty acids and probiotic bacteria in whey protein isolate–gum Arabic complex coacervates. *Journal of Functional Foods*, 2015, 19: 882-892.
- [67] *Kalorické Tabulky.cz: Hubneme zdravě a rozumně* [online]. [cit. 2017-04-10]. Dostupné z: <https://www.kaloricketabulky.cz/>
- [68] *Československý lékopis: Pharmacopoea Bohemoslovaca*. 4. vyd. Praha: Avicenum, 1987.

8 Seznam příloh

Příloha 1: Charakterizace vybraných nápojů a potravin

1 Černý čaj

Sušené lístky cejlonského černého čaje.

2 Káva

100 % káva Arabica, mletá, pražená.

3 Pivo

Světlý pasterizovaný ležák složený z vody, ječných sladů, chmelových produktů. Obsahuje 4,4 % obj. alkoholu.

4 Džus

Pasterovaný ovocný nápoj částečně vyrobený z koncentrovaných šťáv a koncentrovaných protlaků, bez konzervantů a umělých barviv. Je složený z vody, glukózo-fruktózového sirupu, šťáv z koncentrátů pomeranče, mandarinky a maracuji, mangového protlaku z koncentráту, kyseliny citronové jako regulátoru kyselosti, karotenů, kyseliny L-askorbové jako antioxidantu a aromat.

Nutriční hodnoty ve 100 ml nápoje jsou 0 g tuku, 11 g sacharidů, z toho 11 g cukru, 0 g bílkovin a solí. Energetická hodnota je 184 kJ/43 kcal.

5 Coca-cola

Limonáda s kolovou příchutí sycená oxidem uhličitým složená z vody, fruktózo-glukózového sirupu, E150d, kyseliny fosforečné a přírodních barviv, včetně kofeinu.

Nutriční hodnoty připadající na 100 ml – tuků 0 g, sacharidů 11,20 g z toho cukrů 11,20 g, bílkovin a soli 0 g, energetická hodnota 190 kJ/45 kcal.

6 Mléko

Čerstvé, polotučné mléko, vysoce pasterované obsahem tuku 1,5 %.

Výživové údaje ve 100 ml nápoje je 1,5 g tuku z toho 1,0 g nasycených mastných kyselin, 4,7 g sacharidů z toho 4,7 g cukru, 3,3 g bílkovin a 0,10 g soli. Energetická hodnota 100 ml nápoje je 190 kJ/45 kcal

7 Ovesná kaše

Směs na přípravu instantní ovesné kaše s čokoládou je složena z ovesných vloček, sušeného mléčného přípravku (laktóza, mléčná bílkovina, částečně ztužený sójový olej, mléčný tuk, sušený kukuřičný sirup), fruktóza, kukuřičný škrob, kousky hořké čokolády (43,5 % kakaové hmoty), kakao se sníženým obsahem tuku, aroma, jedlá sůl. Může obsahovat stopy skořápkových plodů.

Nutriční hodnoty na 100 g potravin je 8,4 g tuku z toho 2,2 g nasycených mastných kyselin, 69 g sacharidů z toho 27 g cukru, 5,50 g vlákniny, 84 g bílkovin a 0,80 g soli. Energetická hodnota kaše je 1671 kJ/396 kcal.

8 Závín s makovou náplní

Makový závín je složený z pšeničné mouky, vody, cukru, řepkového oleje, vaječné melanže, droždí, sušeného mléka, jedlé soli. Maková náplň tvoří 50 % produktu. Náplň je složena z máku, cukru, rýžové a pšeničné mouky, modifikovaného a kukuřičného škrobu, kypřicí látky (difosforečnany a uhličitany sodné), jedlá sůl, octan vápenatý jako regulátor kyselosti, alginát sodný, voda a povidla. Povidla jsou připravena ze zahuštěné švestkové dřeně, jablečná dřev, cukr, glukózový sirup, barvivo E150d, ovocná vláknina, zahušťovadla (xantan, karubin, modifikovaný škrob), kyselina citonová a askorbová, aroma a strouhanka.

Výživové hodnoty pro 100g makového závínu jsou 10 g tuku, z toho 1,4 g nasycených mastných kyselin, 49 g sacharidů, z toho 19 g cukru, 9,2 g bílkovin a 0,59 g soli. Energetická hodnota produktu je 1414 kJ/ 337 kcal.

9 Rohlík

Pečivo z bílé pšeničné mouky, vody, řepkového oleje, droždí a soli, ječné sladové mouky, žitné mouky, emulgátorů (E 472e, E 471), dextrózy, cukru, látky zlepšující mouku kyseliny L-askorbové. Výrobek může obsahovat stopy jiných obilovin obsahujících lepek, vajec, mléka, sóji, vlničku bobu, skořápkových plodů, arašídů a sezamu.

Nutriční hodnoty 100 g rohlíku jsou 3,68 g tuku z toho 1,19 g nasycených mastných kyselin, 57,46 g sacharidů a 9,79 g bílkovin a 4,45 g vlákniny. Energetická hodnota je 1261,81 kJ/301,57 kcal [67].

10 Ovoce (banán, jablko)

JABLKA jsou bohatá na ovocné kyseliny, cukry a minerální látky, především draslík, hořčík, vápník, železo, fosfor a mangan a z vitamínů je v nich nejhojněji zastoupen vitamín C.

Nutriční hodnoty na 100 g jsou 0,40 g tuků z toho 0,23 g nasycených mastných kyselin, 12,95 g sacharidů z toho 10,98 g cukrů, 0,370 g bílkovin a 3,14 g vlákniny. Energetická hodnota je 237 kJ/56,77 kcal [67].

BANÁN obsahuje vitamíny skupiny C, B a vitamín A a z minerálních látek hořčík, vápník, fosfor a draslík.

Nutriční hodnoty 100 g banánu jsou 0,24 g tuků z toho 0,058 g nasycených mastných kyselin, 21,83 g sacharidů z toho 19,06 g cukru, 1,2 g bílkovin, 2,05 g vlákniny. Energetické hodnoty banánu jsou 393,65 kJ/ 94,08 kcal [67].

11 Zelenina (okurek, cherry rajčata, paprika)

CHERRY RAJČATA jsou bohatým zdrojem vitamínu C, dále pak třeba vitamínu B1, B2, B6 nebo i provitamin A, či niacin a kyselinu listovou. Nutriční hodnoty 100 g cherry rajčat jsou 0,2 g tuku, 3,9 g sacharidů, 1 g bílkovin a 1,2 g vlákniny. Energetická hodnota 100 g je 89 kJ/ 21,27 kcal [67].

SALÁTOVÁ OKURKA obsahuje především vitamíny C, B1 a B2. Nutriční hodnoty 100 g okurky jsou 0,18 g tuku z toho 0,066 g nasycených mastných kyselin, 2,28 g sacharidů z toho 1,48 g cukru, 0,82 g bílkovin a 0,93 g vlákniny. Energetická hodnota okurky jsou 58,56 kJ/ 13,99 kcal [67].

Nutriční hodnoty 100 g PAPRIKY BÍLÉ jsou 0 g tuků, 4 g sacharidů, 1 g bílkovin a 2 g vlákniny. Energetická hodnota papriky je 65 kJ/ 15,54 kcal [67].

12 Hovězí bujón

Obsahuje jedlou sůl s jodem, škrob, palmový tuk, látky zvýrazňující chuť a vůni (E624, E631, E627), sušený extrakt z hovězího masa, sójový hydrolyzát, cukr, aroma, sušená zelenina (cibule, karotka, petrželová nať, kvasnicový výtažek, barvivo E150c, kyselina citronová, mletý muškátový květ. Může obsahovat stopy lepek, vajec, mléka, celeru a včelího bobu.

Nutriční hodnoty na 100 ml tohoto výrobku jsou 0,3 g tuku, z toho 0,2 g nasycených mastných kyselin, 0,4 g sacharidů z toho 0,07 g cukry, 0,20 g bílkovin a 0,9 g soli. Energetická hodnota bujónu je 22,30 kJ/5,3 kcal.

13 Instantní polévka s játrovými knedlíčky

Polévka obsahuje játrové knedlíčky, ty jsou složeny ze strouhanky (pšeničná mouka, vepřový tuk, kvasnice, jedlá sůl, cukr), vepřových jater, pšeničné krupice, palmového tuku, výtažků z rozmarýnu jako antioxidantu, vepřového masa, sušených vaječných žloutků a bílků, česnekového a cibulového prášku, kvasničného extraktu, směsi koření, jodidované jedlé soli (NaCl a KI), karamelového barviva, difosforečnanů a uhličitanu sodného jako kypřících látek, aromat. Tato polévka je dále složena ze semolinových těstovin, sušené zeleniny (mrkev, pastinák, cibule), jodizované jedlé soli, bramborového škrobu, sušeného glukózového sirupu, kvasničného extraktu, cukru, slunečnicového oleje, aromat, palmového tuku, rostlinného bílkovinného hydrolyzátu, sušené petrželové nati, kyseliny citronové, karamelového barviva, černého pepře. Výrobek také může obsahovat mléko, sóju, celer a ryby.

Nutriční hodnoty na 100 g výrobku je 11,50 g tuků z toho nasycené mastné kyseliny 6,10 g, sacharidy 50,90 g z toho cukry 6,50 g, 4,60 g vlákniny, 16,80 g bílkovin a 9,10 g soli. Energetická hodnota je 1615 kJ/384 kcal.

14 Hrášková instantní polévka s krutony

Hrášková polévka se skládá z mletého a celého zeleného hrášku, palmového oleje, výtažku z rozmarýnu (antioxidant), jedlé soli, bramborového škrobu, kvasničného extraktu, brambor, palmového tuku, cukru, glukózového sirupu, jako koření je přidána kurkuma a muškátový oříšek, mléčné bílkoviny, petržel (mletou i nať), aromat. Obsahuje také krutony, složené pšeničné mouky, jedlé soli, kvasnic a řepkového oleje. Může obsahovat vejce, celer, hořčici.

Nutriční hodnoty na 100 ml výrobku je 0,90 g tuků z toho 0,50 g nasycené mastné kyseliny, 4,40 g sacharidů z toho 0,70 g cukru, 2,00 g bílkovin a 0,92 g soli, energetická hodnota 154 kJ/37 kcal.

15 Hamburger

Složen z mletého hovězího masa, taveného sýru typu čedar, pšeničné žemle, kečupu, hořčice, nakládané okurky a cibule.

Nutriční hodnota na jednu porci (100 g) je 11,82 g tuku, z toho 5,55 g nasycených mastných kyselin, 27,27 g sacharidů z toho 6,64 g cukrů, 14,55 g bílkovin a 1,55 g soli. Energetická hodnota hamburgeru je 1157 kJ/276 kcal.

16 Instantní těstoviny se smetanovou omáčkou

Směs na přípravu této potraviny je složena ze sušených bezvaječných pšeničných těstovin, sušené náhrady smetany, jodizované jedlé soli, smetanového prášku, bramborového škrobu, kvasničného extraktu, sušeného odtučněného mléka, sušené mleté zeleniny (cibul, česnek, petrželová nať), aroma, kuřecí tuk, pšeničná mouka, sušené kuřecí maso mleté, výtažky z rozmarýnu jako antioxidant, kurkuma. Může obsahovat stopy sóji, celeru a ryb.

Nutriční hodnoty na 100 g tohoto výrobku jsou 7,20 g tuku z toho 3,80 g nasycených mastných kyselin, 65,60 g sacharidů z toho 6,10 g cukrů, 3,30 g vlákniny, 12,60 g bílkovin a 3,68 g soli. Energetická hodnota produktu je 1623 kJ/384 kcal.

17 Kuřecí maso s rýží

KUŘECÍ MASO obsahuje mnoho cenných bílkovin a malé množství tuku. Hodnoty vitamínů a minerálů závisí na způsobu chovu drůbeže.

Nutriční hodnoty 100 g kuřecího masa jsou 3 g tuku z toho 0,9 g nasycených mastných kyselin, 0 g sacharidů a 28,9 g bílkovin. Energetická hodnota 100 g kuřecího je 631 kJ/ 150,81 kcal [65].

Nutriční hodnoty RÝŽE jsou 0,28 g tuku, 28 g sacharidů a 2,69 g bílkovin. Energetická hodnota 100 g rýže je 543 kJ/ 129,78 kcal [65].

18 Jogurt

Bílý jogurt s obsahem nejméně 2,4 % tuku. Je složený z mléka, mléčné bílkoviny a jogurtové kultury.

Výživové údaje na 100 g jogurtu jsou 2,7 g tuku z toho 1,6 g nasycených mastných kyselin, 4,5 g sacharidů z toho 4,5 g cukru, 4,9 g bílkovin a 0,13 g soli. Energetická hodnota jogurtu je 260 kJ/ 62 kcal.

19 Čokoládový pudingový krém se šlehačkou

Čokoládový pudink obsahuje pudink a šlehačku. Pudink je složen z mléka, cukru, kukuřičného a tapiokového modifikovaného škrobu, čokoláda v prášku (cukr, kakao) a karagenan jako stabilizátor. Šlehačka je složena ze smetany, cukru, glukózového sirupu, želatiny, emulgátoru E472b (estery mono a diglyceridů), gumy guar a karagenanu a jako pěnотvorná látka je použitý dusík.

Výživové údaje pudinkového dezertu jsou 2 g tuku z toho 1,2 g nasycených mastných kyselin, 16 g sacharidů z toho 12 g cukru, 2,8 g bílkovin a 0,2 g soli. Energetická hodnota pudinku je 400 kJ/ 95 kcal.

20 Arašídová pomazánka (Nugeta)

Arašídová pomazánka je složena z arašídů, palmového, slunečnicového, svetlicového, bavlníkového, řepkového a rýžového tuku, laktózy, sušené syrovátky, práškové náhrady mléka (glukózový sirup, kokosový olej, laktóza, mléčná bílkovina, fosforečnan draselný, mono a diglyceridy mastných kyselin a jejich estery, protispěková látka fosforečnany vápenaté a karoteny jako barvivo), kakaového prášku se sníženým obsahem tuku, sójový lecitin a polyglycerolpolyricinoleát jako emulgátory, aroma. Může obsahovat stopy ořechů a sóji.

Výživové údaje na 100 g potraviny je 29,0 g tuku z toho 7,5 g nasycených mastných kyselin, 57,0 g sacharidů z toho 49,2 g cukru, 2,8 g vlákniny, 9,0 g bílkovin a 0,08 g soli. Energetická hodnota produktu je 2217 kJ/531 kcal.

21 Vlašský salát

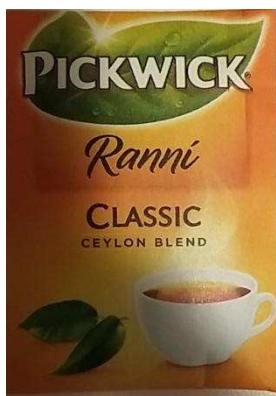
Obsahuje lahůdkový salám vyroben z vepřového masa, pitné vody, hovězího masa, jedlé soli s jodem, česneku, di a trifosforečnanů jako stabilizátorů **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**, vepřové bílkoviny, dusitanu sodného jako konzervantu, koření, dextrózy, maltodextrinu, cukru a jako barvivo je použitý paprikový extrakt. Dále pak majonézu, která je vyrobena z řepkového oleje, pitné vody, cukru, pasterovaného vaječného žloutku, kvasného lihového octu, jedlé soli a jako konzervant byl použit benzoan sodný. Další složky jsou vařené brambory, sterilované okurky a hrách, marinovaná cibule, hořčice a koření.

Výživové údaje na 100 g tohoto produktu jsou 22,5 g tuku, z toho 3,0 g nasycených mastných kyselin, 8,1 g sacharidů z toho 3,5 g cukru, 4,4 g bílkovin, 1,5 g soli. Energetická hodnota produktu je 1049 kJ/254 kcal.

22 Chipsy solené

Smažené bramborové lupínky obsahují brambory, slunečnicový olej a jedlou sůl. Nutriční hodnoty na 100 g jsou 35 g tuku z toho 3,2 g nasycených mastných kyselin, 48 g sacharidů z toho 0,6 g cukru, 4 g vlákniny, 5,4 g bílkovin a 1,5 g soli.

Příloha 2: Galerie použitých nápojů a potravin



černý čaj



káva



pivo



džus



coca-cola



čerstvé mléko

Obrázek 9: Testované nápoje



hovězí bujón



instantní polévka s játrovými
knedlíčky



hrachová instantní polévka s
krutony

Obrázek 10: Testované polévky



instantní těstoviny se smetanovou
omáčkou



hamburger



rýže s kuřecím masem

Obrázek 11: Testovaná hlavní jídla



zelenina (paprika, rajče, okurek)



arašidová pomazánka



chipsy



ovoce (jablko, banán)



vlašský salát



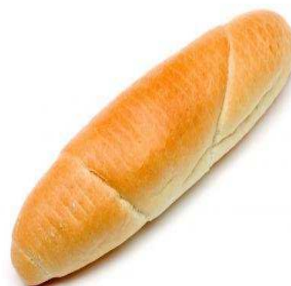
čokoládový pudink se šlehačkou



ovesná kaše



makovec



rohlík



jogurt

Obrázek 12: Testované pochutiny.