

Prežívanie buniek vybraných kmeňov baktérií mliečneho kysnutia v modelových podmienkach tráviacej sústavy

MARCELA MATULOVÁ - ELENA PANGHYOVÁ

SÚHRN. Sledoval sa vplyv kyslého prostredia a žlčových solí na prežívanie buniek vybraných kmeňov *Lactobacillus acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *Lactococcus lactis* a *Bifidobacterium* sp. Najvyššiu životaschopnosť dosahovali bunky *Bifidobacterium longum*, *L. plantarum* UH1Y a *L. acidophilus* CCDM V982 (10^3 – 10^4 KTJ.cm⁻³ z pôvodného počtu 10^7 – 10^9 KTJ.cm⁻³). Bunky kmeňov *L. delbrueckii* LD05, *L. pentosus* a *L. helveticus* CCM 3806 neprežili pôsobenie kyslého prostredia v trvaní 30 min.

KLÚČOVÉ SLOVÁ: probiotické kultúry; acidorezistencia; žlčové soli; *Lactobacillus*; *Bifidobacterium*

Probiotické kultúry sú živé mikroorganizmy (mono- alebo zmesné kultúry) obsiahnuté v potravine, ktoré majú pozitívne zdravotné účinky [1-3]. Najnovšie výskumy však ukazujú, že nielen živé mikroorganizmy, ale aj ich neživé formy a určité zložky bunkových stien môžu pravdepodobne ovplyvňovať zdravie. Probiotické kultúry môžu pôsobiť aj na iných miestach, ako je tráviaci trakt: urogenitálny trakt, nosohltan a ďalšie [4]. Boli opísané viaceré pozitívne účinky probiotických kultúr: syntetizujú vitamíny skupiny B, K, niacín, kyselinu folovú [5-7], tvoria mastné kyseliny s krátkym reťazcom s ochranným účinkom na bunky [8, 9], zohrávajú kľúčovú úlohu v cirkulácii estrogénu a znižovaní zvýšenej hladiny pohlavných hormónov u žien [10]. Probiotické kultúry napomáhajú vylučovaniu karcinogénnych zlúčenín, ako sú amoniak, alifatické amíny, indoly, fenoly a zlúčeniny síry z hrubého čreva. Znižujú aktivitu β -glukuronidáz, azoreduktáz a nitroreduktáz, čo sú enzýmy podieľajúce sa na vzniku rakoviny, čím sa znižuje frekvencia vzniku rakoviny hrubého čreva [11]. Probiotické kultúry sú schopné viazať mutagénne amíny

Mgr. Marcela MATULOVÁ, Ing. Elena PANGHYOVÁ, Výskumný ústav potravinársky, pracovisko Biocentrum Modra, Kostolná 7, 900 01 Modra.

Korešpondujúci autor: Mgr. Marcela MATULOVÁ, e-mail: vup-bc.modra@ba.telecom.sk

vznikajúce pri príprave jedál bohatých na proteíny [12] a môžu znižovať hladinu cholesterolu v krvi jeho zabudovaním do vlastných plazmatických membrán [13].

Probiotické kultúry v súťaži o živiny a adhezívne miesta na črevnom epiteli vytláčajú patogénne mikroorganizmy. Niektoré probiotické kmene znemožňujú patogénom prilnúť k stene čreva stérickými prekážkami, ktoré im kladú, alebo tvorbou povrchovo aktívnych látok [14, 15], iné pôsobia proti patogénom tvorbou antimikrobiálnych látok [16], ďalšie produkujú antibiotiká (*Lactobacillus acidophilus* produkuje laktacín, *L. plantarum* plantaricín, *Bacillus* spp. produkuje surfaktín, tyrocidín, gramicidín, mersacidín, baci-tracín) [17-22]. Bifidobaktérie sú schopné viazať viac iónov železa, ako samy potrebujú. Ich činnosťou sa takto môže znížiť dostupnosť železa pre mnohé patogény, ktorých virulencia závisí práve od dostupnosti železa [23, 24]. Je možné, že *L. plantarum* pôsobí proti patogénom tvorbou oxidu dusnatého z arginínu [25]. Oxid dusnatý pôsobí proti *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Helicobacter pylori*, amébam a parazitom [26, 27]. *L. plantarum* tiež znemožňuje bunkám *E. coli* prilnúť k sliznici a tak pôsobí preventívne voči poškodeniu endotoxínmi, ktorých poškodzujúci účinok sa prejavuje pri kontakte so sliznicou čreva [28].

Probiotické kultúry plnia funkciu obranného mechanizmu voči enteropatogénnym baktériam a ich preniknutiu do organizmu tvorbou vrstvy buniek priliehajúcich k epitelu [29]. K celkovému zlepšeniu funkcie črevnej bariéry dochádza aj kontrolou pH vnútročrevného obsahu vplyvom tvorby kyseliny octovej a mliečnej probiotickými kultúrami [30, 31]. Kyselina mliečna má okrem toho schopnosť pôsobiť ako zhášač voľných radikálov, čo môže byť tiež jedným z dôležitých faktorov v prevencii rakoviny hrubého čreva [32].

Probiotické kultúry môžu mobilizovať špecifické imunitné mechanizmy [33-36]. *L. acidophilus*, *L. casei* a *L. rhamnosus* GG dokonca inhibujú apoptózu buniek črevného epitelu [37]. Zvýšená expresia cytokínov sprevádzajúca viaceré z týchto mechanizmov sa však nemusí prejavovať na odpovedi v tráviacom trakte, pretože môže dochádzať k ovplyvňovaniu inými mikroorganizmami prítomnými vo veľkom počte [38].

Medzi známe probiotické kultúry patria rozličné kmene laktobacilov, bifidobaktérií a grampozitívnych kokov. Z laktobacilov sú bežné napr. *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. reuteri*, *L. brevis*, *L. cellobiosis*, *L. curvatus*, *L. fermentum* alebo *L. plantarum*. Z bifidobaktérií sa používajú najmä *B. bifidum*, *B. adolescentis*, *B. animalis*, *B. infantis*, *B. longum* a *B. thermophilum*. Spomedzi grampozitívnych kokov sú to *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *S. diacetylactis* a *S. intermedius* [39].

Probiotické vlastnosti viacerých z nich sa ešte stále skúmajú. V prípade niektorých výrobkov sa probiotické účinky nepotvrdili, alebo v nich neboli detegované živé bunky v potrebnom množstve.

Mikroorganizmy sa musia v pôvodnom výrobku nachádzať v počte 10^9 – 10^{10} KJTJ.cm⁻³, aby sa do hrubého čreva dostali v požadovanom množstve [40]. Približne 30 % z nich prejde tráviacim traktom a dostane sa do hrubého čreva [41, 42]. Prechod tráviacim traktom je jednou z mnohých požiadaviek na probiotické kultúry. Je to základný a nevyhnutný predpoklad ich účinnosti. Probiotické kultúry musia byť odolné voči enzýmom v ústnej dutine (napr. lyzozýmu), musia byť schopné prežiť pôsobenie žalúdočných kyselín, žlčových solí a pankreatických enzýmov v tenkom čreve a osídliť určitú časť tráviacej sústavy, najmä hrubé črevo [2, 39].

Z výsledkov prác niektorých autorov vyplýva, že žlčové soli majú výraznejší negatívny vplyv na prežívanie bifidobaktérií ako kyslé pH, pričom súčasné pôsobenie oboch faktorov ovplyvňuje prežívanie viac, ako ktorýkoľvek z nich [41]. U niektorých kmeňov rezistencia voči žlčovým soliam priamo súvisí s aktivitou špecifického enzýmu - hydrolázy žlčových solí [43], u iných nie [44]. Precipitácia cholesterolu s voľnými žlčovými kyselinami ako výsledok aktivity hydrolázy žlčových solí mala podľa niektorých štúdií za následok zdanlivé zníženie hladiny cholesterolu v médiu [45, 46].

Vo svojej práci CHOU a WEIMER [47] analýzou mastných kyselín bunkových stien rodičovských buniek a izolátov zistili, že bunky, ktoré sa v procese selekcie ukázali byť rezistentné voči kyslému pH a žlčovým soliam, nie sú prispôbosené varianty rodičovských buniek, ale ide o odlišné kmene.

Pri voľbe probiotických kultúr sa z pohľadu osídlenia tráviacej sústavy za dôležitú považuje schopnosť adherencie k bunkám črevného epitelu. Nie všetky probiotické kultúry sú však toho schopné, čo ale nemusí brániť účinnej probióze [1]. Pri voľbe probiotík je dôležitá aj schopnosť koagregácie, teda schopnosť tvoriť súčasť mikrobioty pozostávajúcej z viacerých druhov mikroorganizmov [48], za dôležité kritérium sa považuje aj pôvod, t. j. aby boli probiotické kultúry izolované z hostiteľa [39].

V tejto práci sa sledovala schopnosť vybraných kmeňov prežívať pri pôsobení kyslého prostredia a žlčových solí.

Materiál a metódy

Výber kmeňov

Pri výbere testovaných kmeňov sa vychádzalo z Potravinového kódexu SR [49] a odbornej literatúry, kde sa ako probiotické kultúry uvádza-

jú monokultúry alebo zmesné kultúry baktérií mliečneho kysnutia, ako sú *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *L. paracasei* a *Bifidobacterium* sp., *L. plantarum*, či *Lactococcus lactis* [39, 50]. Na testovanie boli vybrané kmene zo zbierok uvedených v tab. 1.

Metódy stanovenia počtu buniek

Počet baktérií rodu *Lactobacillus* sa stanovoval platňovou metódou zalieváním MRS pôdou (HiMedia Laboratories, Mumbai, India) [51]. Počet baktérií rodu *Bifidobacterium* sa stanovil metódou kolmých agarov [52].

Udržiavanie testovaných kmeňov

Lyofilizované kultúry sa udržiavali pri teplote -18°C . Po otvorení konzervy sa kmene oživil v 5 cm^3 MRS pôdy [53] alebo MRS pôdy s 0,02 % cysteínu (odporúčaná pôda podľa CCM - Česká sbírka mikroorganizmů, Brno, Česká republika) 24 h kultiváciou pri 37°C . Takto pripravenou kultúrou (v množstve 5 % objemu kultivačnej pôdy) sa zaočkovalo 100 cm^3 MRS pôdy alebo MRS pôdy s 0,02 % cysteínu a 0,5% prídavkom CaCO_3 . Po 24 h kultivácie pri teplote 37°C sa pripravené zásobné kultúry udržiavali v chladničke pri teplote 4°C .

TAB. 1. Testované kmene a ich pôvod.
TAB. 1. Tested strains and their origin.

Testovaný kmeň ¹	Zbierka ²
<i>L. acidophilus</i> CCDM V405	CCDM, Praha, Česká republika
<i>L. acidophilus</i> CCDM V982	CCDM, Praha, Česká republika
<i>L. delbrueckii</i> LD05	VÚP, Bratislava, Slovenská republika
<i>L. helveticus</i> CCM 3806	CCM, Brno, Česká republika
<i>L. paracasei</i> LM 5/6	VÚP, Bratislava, Slovenská republika
<i>L. pentosus</i> kal9W	VÚP, Bratislava, Slovenská republika
<i>L. plantarum</i> CCDM 189	CCDM, Praha, Česká republika
<i>L. plantarum</i> CCDM 195	CCDM, Praha, Česká republika
<i>L. plantarum</i> LM 62362	VÚP, Bratislava, Slovenská republika
<i>L. plantarum</i> LV 4/10	VÚP, Bratislava, Slovenská republika
<i>L. plantarum</i> UH1Y	VÚP, Bratislava, Slovenská republika
<i>B. lactis</i> BB12	Chr. Hansen, Horsholm, Dánsko
<i>B. longum</i> 085	VÚP, Bratislava, Slovenská republika

CCDM - Sbíрка mlékařských mikroorganizmů Laktoflora, VÚP - Výskumný ústav potravinársky, CCM - Česká sbírka mikroorganizmů.

1 - tested strain, 2 - collection.

Kultivácia kmeňov rodu Bifidobacterium

Kmene rodu *Bifidobacterium* sa kultivovali anaeróbne v inertnej atmosfére dusíka pri teplote 37 °C na pôde MRS s 0,02 % cysteínu. Očkovovalo sa 5% inokulom zo zásobnej kultúry. Kultivácia prebiehala 24 h.

Kultivácia kmeňov rodu Lactobacillus

Kmene druhu *L. plantarum* sa kultivovali pri teplote 30 °C, ostatné kmene pri teplote 37 °C. Stacionárna kultivácia prebiehala 24 h za aeróbnych podmienok.

Metóda stanovenia vplyvu kyslého prostredia na prežívanie kmeňov

Z pripravenej kultúry sa centrifugáciou (1430 g, 5 min, 5 °C) oddelila biomasa. Oddelená biomasa sa pridala k fyziologickému roztoku upravenému 15% HCl na pH 2,0 (pH žalúdočnej šťavy [54]) a vytemperovanému na teplotu 37 °C. Táto teplota sa udržiavala v termostate počas celého testu. Zo zmesi sa odobrali vzorky v časových intervaloch 0, 30, 60 a 240 min a zisťoval sa počet viabilných buniek.

Metóda stanovenia vplyvu žľových solí na prežívanie kmeňov

Po 4 h pôsobenia kyslého prostredia sa k zmesi buniek vo fyziologickom roztoku pridali žľové soli (0,3 %; Difco, Heidelberg, Nemecko) a NaHCO₃ (0,6 %), aby sa dosiahlo pH 8,3 (pH pankreatickej šťavy [55]). Opätovne sa odoberali vzorky v časových intervaloch 0, 30, 60 a 240 min a zisťoval sa počet viabilných buniek.

Výsledky a diskusia

Silne kyslé prostredie vplývalo na sledované kmene rozdielne. Kmene *L. plantarum* sa pri pH 2,0 prejavili ako acidorezistentné. Kmene *L. acidophilus* prejavili acidorezistenciu len čiastočne, počet viabilných buniek klesal s časom trvania testu o 3-4 poriadky, pričom najvyšší pokles viabilných buniek sa pozoroval v prvej hodine, potom sa počet viabilných buniek ustálil (tab. 2).

Kmene *L. delbruckeii* LD05, *L. helveticus* CCM 3806 a *L. pentosus* dokázali pri pH 2,0 prežiť nanajvýš 30 min. Kmene rodu *Bifidobacterium* sú v silne kyslom prostredí odolné, hoci pokles z pôvodného počtu 10⁹ KTJ.cm⁻³ na 10⁵ KTJ.cm⁻³ po 4 h bol u *B. longum* výrazný. Podobné zmeny sa opisujú aj v literatúre: 60–80 % bifidobaktérií a laktobacilov prežíva po 2 h v podmienkach žalúdka, no len 24–30 % z pôvodného počtu vstupuje do hrubého čreva v životaschopnom stave [41, 42].

TAB. 2. Prežívanie baktérií rodu *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* v prostredí s pH 2,0 vyjadrené v KTJ.cm⁻³.TAB. 2. Survival of bacteria from the genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* at pH 2.0 expressed in CFU.cm⁻³.

Kmeň ¹	Čas odberu vzorky ² [min]			
	0	30	60	240
<i>L. acidophilus</i> CCDM V405	10 ⁶	10 ²	10 ²	10 ²
<i>L. acidophilus</i> CCDM V982	10 ⁶	10 ⁴	10 ³	10 ³
<i>L. delbrueckii</i> LD05	10 ⁷	10 ⁵	<1	<1
<i>L. helveticus</i> CCM 3806	10 ⁸	<1	<1	<1
<i>L. paracasei</i> LM5/6	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>L. pentosus</i> kal9W	10 ⁷	<1	<1	<1
<i>L. plantarum</i> CCDM 189	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>L. plantarum</i> CCDM 195	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>L. plantarum</i> LV 4/10	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷	10 ⁷
<i>L. plantarum</i> UH1Y	10 ⁸	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴
<i>B. lactis</i> BB12	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶
<i>B. longum</i> 085	10 ⁹	10 ⁶	10 ⁵	10 ⁵

1 - strain, 2 - sampling interval.

Všeobecne sa prežívanie vysokého počtu baktérií mliečného kysnutia po 3 h pri pH 3 považuje za dostatočné, pretože probiotické kultúry sú často chránené potravinou alebo inými molekulami, ktoré plnia funkciu nosiča a nie sú priamo vystavené takému nízkemu pH, ako je pH 1–2 [56]. Z tohto hľadiska sa životaschopnosť kmeňov *L. plantarum*, *B. longum* a *B. lactis* BB12, kmeňov *L. acidophilus* CCDM V982 a *L. paracasei* LM5/6 v kyslom prostredí v tomto teste javí ako dobrá.

Pre test na rezistenciu voči žľčovým kyselinám sa vybrali kmene *B. longum*, *B. lactis* BB12, *L. plantarum* UH1Y a *L. acidophilus* CCDM V982. Výraznejší pokles v životaschopnosti po pridaní žľčových solí sa prejavil u *B. lactis* BB12 - už po 30 min pôsobenia žľčových solí klesla o 4 poriadky. U ostatných kmeňov zostala životaschopnosť prakticky nezmenená.

Z predkladanej práce vyplýva, že v modelových podmienkach tráviacej sústavy (silne kyslé prostredie žalúdka s pH 2,0 a žľčové soli pankreatickej šťavy s pH 8,3) dosahovali najvyššiu životaschopnosť kmene *B. longum*, *L. plantarum* UH1Y a *L. acidophilus* CCDM V982 (10³–10⁴ KTJ.cm⁻³ z pôvodného počtu 10⁷–10⁹ KTJ.cm⁻³) (tab. 3).

TAB. 3. Prežívanie baktérií rodu *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* v prostredí s pH 2,0 a v prostredí so žľčovými soľami (pH 8,3) vyjadrené v KTJ.cm⁻³.

TAB. 3. Survival of bacteria from the genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* at pH 2.0 and in the presence of bile salts (pH 8.3) expressed in CFU.cm⁻³.

Kmeň ¹	Čas odberu vzorky ² [min]					
	0	30	240*	270	300	480
<i>L. acidophilus</i> CCDM V982	10 ⁷	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³	10 ³
<i>L. plantarum</i> UH1Y	10 ⁸	10 ⁴	10 ⁴	10 ³	10 ³	10 ³
<i>B. lactis</i> BB12	10 ⁶	10 ⁶	10 ⁶	10 ²	10 ²	10 ²
<i>B. longum</i> 085	10 ⁹	10 ⁶	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴

* - pridanie žľčových solí a NaHCO₃.

* - addition of bile salts and NaHCO₃. 1 - strain, 2 - sampling interval.

Záver

Silne kyslé prostredie vplývalo na sledované kmene rozdielne. Kmene *L. plantarum* sa pri pH 2,0 prejavili ako acidorezistentné. Kmene *L. acidophilus* prejavili acidorezistenciu len čiastočne, počet viabilných buniek klesal s časom trvania testu o 3-4 poriadky, pričom najvyšší pokles viabilných buniek sa pozoroval v prvej hodine. Kmene *L. delbruckeii* LD05, *L. helveticus* CCM 3806 a *L. pentosus* dokázali pri pH 2,0 prežiť nanajvýš 30 min. Kmene rodu *Bifidobacterium* sú v silne kyslom prostredí odolné, napriek výraznejšiemu poklesu životaschopnosti u *B. longum* z pôvodného počtu 10⁹ KTJ.cm⁻³ na 10⁵ KTJ.cm⁻³ po 4 h.

V podmienkach silne kyslého prostredia s pH 2,0 a prostredia so žľčovými soľami a pH 8,3 dosahovali najvyššiu životaschopnosť kmene *B. longum*, *L. plantarum* UH1Y a *L. acidophilus* CCDM V982 (10³–10⁴ KTJ.cm⁻³ z pôvodného počtu 10⁷–10⁹ KTJ.cm⁻³) - ich životaschopnosť zostala po pridaní žľčových solí prakticky nezmenená. Výraznejší pokles v životaschopnosti po pridaní žľčových solí sa prejavil u *B. lactis* BB12 - už po 30 min pôsobenia žľčových solí klesla o 4 poriadky.

Literatúra

1. FULLER, R.: A review: probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66, 1989, č. 5, s. 365-378.
2. FULLER, R.: Probiotics: The scientific basis. New York : Chapman&Hall, 1992. 398 s.
3. SALMINEN, S. - OUWEHAND, A. - BENNO, Y. - LEE, Y. K.: Probiotics: how should they be defined? *Trends in Food Science and Technology*, 10, 1999, č. 3, s. 107-110.
4. REID, G. - ZALAI, CH. - GARDINER, G.: Urogenital lactobacilli probiotics, reliability, and regulatory issues. *Journal of Dairy Science*, 84, 2001, Suppl. E, s. E164-E169.
5. GIBSON, G. R. - WANG, X.: Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*, 77, 1994, s. 412-420.
6. MODLER, H. W. - MCKELLAR, R. C. - YAGUCHI, M.: Bifidobacteria and bifidogenic factors. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 23, 1990, s. 29-41.
7. NODA, H. - AKASAKA, N. - OHSUGI, M.: Biotin production by bifidobacteria. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 40, 1994, s. 181-188.
8. BUTS, J.-P. - DE KEYSER, N. - RAEDEMAEKER, L.: *Saccharomyces boulardii* enhances rat intestinal enzyme expression by endoluminal release of polyamines. *Pediatric Research*, 36, 1994, s. 522-527.
9. SHAHANI, K. - CHANDAN, R.: Nutritional and health aspects of cultured and culture containing dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 62, 1979, s. 1685-1694.
10. GORBACH, S. L.: Estrogens, breast cancer, and intestinal flora. *Reviews in Infectious Diseases*, 6, 1984, Suppl. 1, s. S85-90.
11. REDDY, B.: Prevention of colon cancer by pre- and probiotics: evidence from laboratory studies. *British Journal of Nutrition*, 80, 1998, Suppl. 2, s. S219-S223.
12. ORRHAGE, K. - SILLERSTROM, E. - GUSTAFSSON, J. A. - NORD, C. E. - RAFTER, J.: Binding of mutagenic heterocyclic amines by intestinal and lactic acid bacteria. *Mutation Research*, 311, 1994, s. 239-248.
13. DERODAS, B. Z. - GILLILAND, S. E. - MAXWELL, C. V.: Hypocholesterolemic action of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 and calcium in swine with hypercholesterolemia induced by diet. *Journal of Dairy Science*, 79, 1996, s. 2121-2128.
14. REID, G. - COOK, R. L. - BRUCE, A. W.: Examination of strains of lactobacilli for properties which may influence bacterial interference in the urinary tract. *Journal of Urology*, 138, 1987, s. 330-335.
15. VELRAEDS, M. C. - VAN DER MEI, H. C. - REID, G. - BUSSCHER, H. J.: Inhibition of initial adhesion of uropathogenic *Enterococcus faecalis* by biosurfactants from *Lactobacillus* isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 1996, s. 1958-1963.
16. HORN, CH. H.: The potential of probiotics. *Food Review*, 26, 1999, s. 27-29.
17. ANDERSON, R. E. - DAESCHEL, M. A. - HASSAN, H. M.: Antibacterial activity of plantaricin SIK-83, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum*. *Biochemistry*, 70, 1988, s. 381-390.
18. BAREFOOT, S. F. - KLAENHAMMER, T. D.: Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 9, 1983, s. 1808-1815.
19. ALTENA, K. - GUDER, A. - CRAMER, C. - BIERBAUM, G.: Biosynthesis of the lantibiotic mersacidin: organization of type B lantibiotic gene cluster. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 2000, s. 2565-2571.
20. COSMINA, P. - RODRIGUEZ, F. - DE FERRA, F. - GRANDI, G. - PEREGO, M. - VENEMA, G. - VAN SINGEREN, D.: Sequence and analysis of the genetic locus responsible for surfactin synthesis in *Bacillus subtilis*. *Molecular Microbiology*, 8, 1993, s. 821-831.

21. KONZ, D. - KLENS, A. - SCHORGENDORFER, K. - MARAHIEL, M.: The bacitracin biosynthesis operon of *Bacillus licheniformis* ATCC10716: molecular characterization of three multi-modular peptide synthetases. *Chemistry and Biology*, 4, 1997, s. 927-937.
22. MOOTZ, H. D. - MARAHIEL, M. A.: The tyrocidine biosynthesis operon of *Bacillus brevis*: complete nucleotide sequence and biochemical characterization of functional internal adenylation domains. *Journal of Bacteriology*, 179, 1997, s. 6843-6850.
23. BULLEN, J. J.: The significance of iron in infection. *Reviews in Infectious Diseases*, 3, 1981, s. 1127-1138.
24. BARCLAY, R.: The role of iron in infection. *Medical Laboratory Science*, 42, 1985, s. 166-177.
25. BENGMARK, S.: Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora. *Gut*, 42, 1998, s. 2-7.
26. DUNCAN, C. - DOUGALL, H. - JOHNSTON, P. - GREEN, S. - BROGAN, R. - LEIFERT, C. - SMITH, L. - GOLDEN, M. - BENJAMIN, N.: Chemical generation of nitric oxide in the mouth from the enterosalivary circulation of dietary nitrate. *Nature Medicine*, 1, 1995, s. 546-551.
27. LUNDBERG, J. O. N. - WEITZBERG, E. - LUNDBERG, J. M. - ALVING, K.: Intragastric nitric oxide production in humans: measurements in expelled air. *Gut*, 35, 1994, s. 1543-1546.
28. SPITZ, J. C. - TAVERAS, M. - HECHT, G. - TAVERAS, M. - AOYS, E. - ALVERDY, J.: The effect of dexamethasone administration on rat intestinal permeability: the role of bacterial adherence. *Gastroenterology*, 106, 1994, s. 35-41.
29. KASPER, H.: Protection against gastrointestinal diseases - present facts and future developments. *International Journal of Food Microbiology*, 41, 1998, s. 127-131.
30. GIBSON, G. R. - WANG, X.: Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*, 77, 1994, s. 412-420.
31. HOMMA, N.: Bifidobacteria as a resistance factor in human beings. *Bifidobacteria and Microflora*, 7, 1988, s. 35-43.
32. BEZKOROVAINY, A. - KOT, E.: Interaction of bifidobacteria with ferric iron. *International Dairy Journal*, 8, 1998, s. 507-512.
33. BUTS, J. P. - BERNASCONI, P.: Stimulation of secretory IgA and secretory component of immunoglobulins in small intestine of rats treated with *Saccharomyces boulardii*. *Digestive Disease Science*, 35, 1990, s. 251-256.
34. FAMULARO, G. - MORETTI, S. - MARCELLINI, S. - DE SIMONE, C.: Stimulation of immunity by probiotics. In: FULLER, R.: *Probiotics: therapeutic and other beneficial effects*. London : Chapman and Hall, 1997, s. 133-161.
35. DE SIMONE, C. - CIARDI, A. - GRASSI, A. - LAMBERT GARDINI, S. - TZANTZOGLOU, S. - TRINCHIERI, V.: Effect of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* on gut mucosa and peripheral blood B lymphocytes. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 14, 1992, s. 331-340.
36. MAJAMAA, H. - ISOLAURI, E.: Probiotics: A novel approach in the management of food allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 99, 1997, s. 179-185.
37. YAN, F. - POLK, D. B.: Probiotic bacterium prevents cytokine-induced apoptosis in intestinal epithelial cells. *Journal of Biological Chemistry*, 277, 2002, č. 52, s. 50959-50965.
38. SEEGER, J. F. M. L.: Lactobacilli as live vaccine delivery vectors: progress and prospects. *Trends in Biotechnology*, 20, 2002, č. 12, s. 508-515.
39. COLLINS, M. D. - GIBSON, G. R.: Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69, 1999, Suppl., s. 1052S-1057S.
40. SAXELIN, M. - ELO, S. - SALMINEN, S. - VAPAATALO, H.: Dose response colonisation

- of faeces after administration of *Lactobacillus casei* strain GG. Microbial Ecology in Health and Disease, 4, 1991, s. 209-214.
41. MARTEAU, P. - MINEKUS, M. - HAVENAAR, R. - HUIS IN'T VELD, J. H. J.: Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine: validation and the effects of bile. Journal of Dairy Science, 80, 1997, s. 1031-1037.
 42. POCHART, P. - MARTEAU, P. - BOUHNİK, Y. - GODEREL, I. - BOURLIOUX, P. - RAMBAUD, J. C.: Survival of bifidobacteria ingested via fermented milk during their passage through the human small intestine: an in vivo study using intestinal perfusion. American Journal of Clinical Nutrition, 55, 1992, s. 78-80.
 43. DU TOIT, M. - FRANZ, C. - SCHILLINGER, U. - WARLES, B. - HOLZAPFEL, W.: Characterization and selection of probiotic *Lactobacilli* for a preliminary minipig-feeding trial and their effect on serum cholesterol level, faeces moisture contents. International Food Microbiology, 40, 1998, s. 93-104.
 44. USMAN, M. - HOSONO, A.: Bile tolerance, taurocholate deconjugation and binding of cholesterol by *Lactobacillus gasseri* strain. Journal of Dairy Science, 82, 1999, s. 243-248.
 45. KLAVER, F. A. M. - VAN DER MEER, R.: The assumed assimilation of cholesterol by *Lactobacilli* and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile salt-deconjugating activity. Applied and Environmental Microbiology, 59, 1993, s. 1120-1124.
 46. TAHRI, K. - BALLONGUE, J. - SCHNEIDER, F.: Effects of three strains of bifidobacteria on cholesterol. Letters in Applied Microbiology, 21, 1995, s. 149-151.
 47. CHOU, L. S. - WEIMER, B.: Isolation and characterization of acid- and bile-tolerant isolates from strains of *Lactobacillus acidophilus*. Journal of Dairy Science, 82, 1998, s. 23-31.
 48. REID, G.: The scientific basis for probiotic strains of *Lactobacillus*. Applied and Environmental Microbiology, 65, 1999, č. 9, s. 3763-3766.
 49. Výnos Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky z 9. septembra 2004 č. 2265/2004-100, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujúca mlieko a výrobky z mlieka. Vestník Ministerstva pôdohospodárstva SR, 36, 2004, č. 24, s. 8-23.
 50. NIEDZIELIN, K. - KORDECKI, H. - BIRKENFELD, B.: A controlled double-blind randomized study on the efficacy of *L. plantarum* 299V in patients with irritable bowel syndrome. European Journal of Gastroenterology and Hepatology, 13, 2001, s. 1143-1147.
 51. ČSN 56 0094. Stanovenie počtu baktérií rodu *Lactobacillus*. 1988.
 52. JAMRICHOVÁ, S.: Správa VTP 514-48, časť VE 03: Metódy využitia mliekarenských kultúr vo výžive vybraných skupín obyvateľstva. Bratislava : Výskumný ústav potravinársky, 1998. 21 s.
 53. BETINA, V.: Mikrobiologické laboratórne metódy. Bratislava : Alfa, 1987. 544 s.
 54. ALANDER, M. - DE SMET, I. - NOLLET, L. - VERSTRAETE, W. - VON WRIGHT, A. - MATTILA-SANDHOLM, T.: The effect of probiotic strains on the microbiota of the simulator of the human intestinal microbial ecosystem (SHIME). International Journal of Food Microbiology, 46, 1999, s. 71-79.
 55. ŠKÁRKA, B. - FERENČÍK, M.: Biochémia. Bratislava : Alfa, 1983. 640 s.
 56. MATIAŠIČ, B. G. - ROGELJ, I.: *Lactobacillus* K7 - a new candidate for a probiotic strain. Food Technology and Biotechnology, 38, 2000, č. 2, s. 113-119.

Do redakcie došlo 7. 12. 2004.

**Survival of the selected selected strains of lactic acid bacteria
in model conditions of the digestive tract**

MATULOVÁ, M. - PANGHYOVÁ, E.: Bull. potrav. Výsk., 44, 2005, p. 205-215.

SUMMARY. The influence of a low pH and of bile salts on the survival of cells of selected strains of *Lactobacillus acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *Lactococcus lactis* and *Bifidobacterium* sp. was studied. A highest survival rate was determined for cells of *Bifidobacterium longum*, *L. plantarum* UH1Y and *L. acidophilus* CCDM V982 (10^3 – 10^4 CFU.cm⁻³ from the original counts of 10^7 – 10^9 CFU.cm⁻³). Cells of the strains *L. delbrueckii* LD05, *L. pentosus* and *L. helveticus* CCM 3806 did not survive in acidic conditions during 30 min.

KEYWORDS: probiotics, acid-resistance; bile salts; *Lactobacillus*; *Bifidobacterium*