

**USING PROBIOTIC STRAINS FOR SOURDOUGH PRODUCTION**

**Přichystalová J., Kalhotka L., Šušková J., Kos B., Beganović J., Pavunc A., Habjanič K.**

Department of Agrochemistry, Soil science, Microbiology and Plant Nutrition, Faculty of Agriculture, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xsvanca1@node.mendelu.cz

---

**ABSTRACT**

Our aim was to use probiotic strains for the production of sourdough and test their antimicrobial activity by using turbidimetric method. The experiments tested inhibitive activity against some pathogens which can appear in sourdough.

Evidently probiotic microorganisms decrease count of pathogens as *Echerichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. There is possibility in developing new sourdough starters containing probiotic culture which could be advantageous in bakery technologies.

**Key words:** sourdough, probiotic strains, microorganisms, antimicrobial activity

**Acknowledgments:** The project was realized at University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology, Laboratory for Antibiotics, Enzymes, Probiotic and Starting Cultures

## ÚVOD

Vzhledem k tomu, že převážná většina potravin obsahujících probiotika je mléčného původu, vyvstává výzva produkce potravin nemléčného původu s probiotiky. V dnešní době je možné konzumovat fermentované salámy nebo šťávu z kysaného zelí obsahující probiotické mikroorganismy. Jelikož z celosvětové produkce potravin zaujímají cereálie 73 %, bylo by vhodné, aby se i zde podařilo nalézt využití pro probiotické mikroorganismy.

Konzumace živých probiotických bakterií je jeden z nejpřirozenějších způsobů, jak preventivně zabránit vzniku rakoviny (Šušková, 2001) a jak udržovat střevní mikroflóru v rovnováze. K jejich dalším příznivým účinkům patří produkce mastných kyselin s krátkým řetězcem, jejichž hlavním významem je výživa buněk střevního epitelu – kolonocytů (Lipská a Visokai, 2009). K probiotickým bakteriím patří rody *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* a některé kvasinky (*Sacharomyces boulardii*).

Ke správnému růstu probiotických bakterií je třeba, aby měly dostatek substrátu tzv. prebiotika. Ty se skládají z vlákniny a jejích štěpných produktů. Ačkoliv se prebiotika chovají k trávicímu systému jako inertní, jsou selektivně fermentována probiotiky, která je využívají jako zdroj energie a stavební materiál (Tannock, 2007). Cereálie obsahují vlákninu škrob, a monosacharidy jako je glukosa, stachylosa, fruktosa apod. Obiloviny oproti mléku vykazují vyšší obsah některých esenciálních vitamínů, vlákniny a minerálů (Charalampopoulos, 2009).

Obiloviny obsahují omezené množství využitelných aminokyselin díky limitujícímu množství threoninu, lysinu a tryptofanu. Ve srovnání s mlékem a ostatními živočišnými produkty vykazují nižší stravitelnost bílkovin. To je též způsobeno přítomností kyseliny fytové. Působením mléčného kvašení je možné efektivně snížit množství kyseliny fytové a taninů. Tím se dostupnost proteinů zlepší (Charalampopoulos, 2009).

Produkce kvasu je nezbytná pro výrobu žitného chleba a dalšího pečiva jako je Panettone, toskánský či Altamura chléb. Přítomnost kvasu v těstě je nutná k dosažení potřebného objemu pečiva a k poklesu pH (Brandt, 2006). Přídavkem probiotických bakterií je možné dosáhnout nakynutí stejně dobře, jako při použití komerčních kvasů obsahujících směsnou kulturu bakterií mléčného kvašení. Probiotické bakterie produkují kyselinu mléčnou a CO<sub>2</sub>. Heterofermentativní mikroorganismy mohou produkovat ještě další látky, zejména kyselinu octovou, která spolu s kyselinou mléčnou okyseluje těsto.

Silná antimikrobiální aktivita, která je důležitou vlastností probiotik, je způsobena produkcí pestré směsi látek jako např. je kyselina mléčná, peroxid vodíku a bakteriociny. Použití probiotik je tak

## MENDELNET 2010

nejpřirozenějším způsobem konzervace. Jsou schopna inhibovat široké spektrum mikroorganismů způsobující kažení potravin (Geddes a kol., 1999). Význam probiotických bakterií v kvascích nespočívá v jejich přímé konzumaci spotřebitelem, ale v tom, že zkvalitňují proces kynutí a brání rozvoji nežádoucí mikroflóry.

Cílem experimentu bylo zjistit míru inhibičního působení probiotických bakterií na nežádoucí mikroorganismy kontaminující mouku a zjistit tak možnost využití probiotických mikroorganismů při výrobě pekařských kvasů.

### MATERIÁL A METODIKA

V rámci experimentu byly použity probiotické bakterie definované na Univerzitě v Záhřebu (Fakulta technologie potravin a biotechnologie):

- *Lactobacillus helveticus* (M92)
- *Lactobacillus plantarum* (L4)
- *Enterococcus faecium* (L3)
- *Lactobacillus fermentum* (A8)
- *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* (LMG 9450)

Během předběžných výsledků byla provedena fenotypová a genotypová charakterizace kmenů bakterií mléčného kvašení *Lactobacillus helveticus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4, *Enterococcus faecium* L3, *Lactobacillus fermentum* A8 a *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* LMG 9450, odebraných při fermentaci mouky pomocí klasických mikrobiologických a molekulárních metod (API 50 CHL, API 20 Strep, SDS – PAGE, RAPD).

Podstatou experimentu bylo zjistit inhibiční účinek použitých bakterií proti testovaným mikroorganismům, potenciálním kontaminantům mouky, *Staphylococcus aureus* 3048, *Escherichia coli* 3014 a *Bacillus subtilis* ATCC 6633 pomocí turbidimetrické metody.

Centrifugací kultury bakterií *Lactobacillus helveticus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4, *Enterococcus faecium* L3, *Lactobacillus fermentum* A8 a *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* LMG 9450 při 9000 ot./min po dobu 5 min, byla odstraněna voda. Supernatantní bakteriální kultury byly sterilně přefiltrovány přes membránový mikrofiltr s póry 0,22 µm tak, aby byly zachyceny bakteriální buňky.

Do otvorů mikrotitračních destiček bylo přidáno 240 µl supernatantní zkoumané bakteriální kultury a 10 µl testovacích mikroorganismů, které byly nakultivovány v ochranném médiu. Antibakteriální aktivita zkoumaných bakteriálních kultur k testovacím mikroorganismům po 24 hodinách kultivace při 37 °C byla stanovena spektrofotometrickým měřením absorbance při vlnové délce 620 nm pomocí počítače mikrotitračních destiček (LKB 5060-006, „GDV“, Itálie). Rozdíl v absorbanci

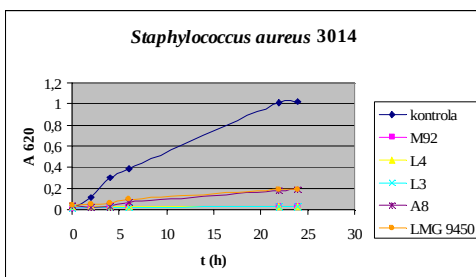
ochranného bujónu bez přidané supernatantních zkoumaných bakterií a vzorku s dodaným supernatantem je přímo úměrný inhibici růstu testovacích mikroorganismů. Slepá zkouška byla provedena na neinokulovaný ochranný bujón.

## VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem experimentu bylo otestovat antimikrobiální aktivitu vybraných probiotických bakterií. Při tomto experimentu byl zjištěn rapidní pokles vitality testovaných kontaminujících bakterií *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* 3048 a *Escherichia coli* 3014. *Staphylococcus aureus* 3048 (Graf 1) byl nejvíce inhibován kmenem *Lactobacillus plantarum* L4. Indikátor fekálního znečištění *Escherichia coli* 3014 (Graf 2) a bakterie způsobující nitkovitost chleba *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (Graf 3) nejméně rostly v přítomnosti *Lactobacillus helveticus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4 a *Enterococcus faecium* L3.

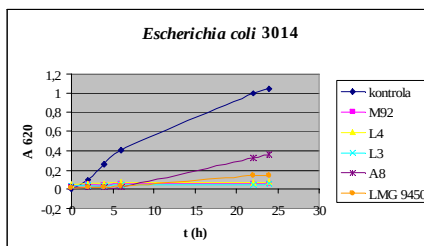
Inhibici nejvíce způsobovala přítomnost kyseliny mléčné, jejíž produkce byla nejdůležitější vlastností startovacích kultur používaných pro výrobu kvasu (Clarke, Schober a Arendt, 2002; Gianotti a kol., 1997). Rychlá produkce kyseliny mléčné během prvního a druhého dne je nezbytná pro produkci kvasu z technologických a hygienických důvodů. Výsledky ukázaly, že aplikované kmeny mohou být užity pro efektivní výrobu kvasu. Navíc jsou výhodné díky svým antagonistickým vlastnostem proti *Escherichia coli* a *Bacillus subtilis*, obvyklým kontaminantům během fermentace

Graf. 2 Inhibice růstu testovacích mikroorganismů *Staphylococcus aureus* 3048 supernatantní kulturou bakteriálních kmenů *Lactobacillus helveticus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4, *Enterococcus faecium* L3, *Lactobacillus fermentum* A8 a *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* LMG 9450; kontrola – růst testovacího mikroorganismu *Staphylococcus aureus* 3048 v ochranném bujónu

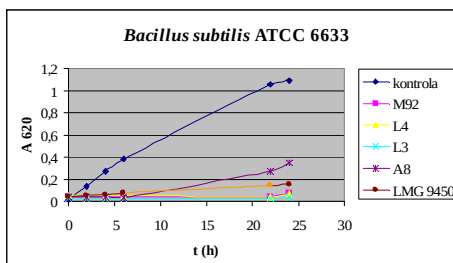


## MENDELNET 2010

Graf. 3 Inhibice růstu testovacích mikroorganismů *Escherichia coli* 3014 supernatantní kulturou bakteriálních kmenů *Lactobacillus helveticus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4, *Enterococcus faecium* L3, *Lactobacillus fermentum* A8 a *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* LMG 9450; kontrola – růst testovacího mikroorganismů *Escherichia coli* 3014 v ochranném bujónu



Graf. 4 Inhibice růstu testovacích mikroorganismů *Bacillus subtilis* ATCC 6633 supernatantní kulturou bakteriálních kmenů *Lactobacillus helveticus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4, *Enterococcus faecium* L3, *Lactobacillus fermentum* A8 i *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* LMG 9450; kontrola – růst testovacích mikroorganismů *Bacillus subtilis* ATCC 6633 v ochranném bujónu



## ZÁVĚR

Je jisté, že kvas obsahuje dostatečné množství potřebných živin, aby v něm mohly růst probiotické bakterie a představuje směr pro vývoj nových funkčních potravin. Bohužel jsou probiotické bakterie v průběhu technologie pečení usmrceny. Chléb tak nemůže mít probiotické účinky sám o sobě. Je ale důležité poznamenat, že probiotika nepůsobí na zdraví jen tím, že se dostanou živé do střevního traktu, ale už v syrovém těstě syntetizují mnohé vitamíny (riboflavin, niacin, thiamin) a heterofermentativní bakterie tvoří látky mající vliv na chuť chleba.

Za poslední desetiletí bylo navrženo mnoho způsobů využití probiotických kmenů bakterií. Tato studie si dala za úkol dokázat, je-li možné je využívat i pro produkci kvasu. Experimenty prokázaly výhodnost využití probiotických bakterií jako jsou *Lactobacillus helveticus* M92, *Lactobacillus plantarum* L4, *Enterococcus faecium* L3, *Lactobacillus fermentum* A8 a *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* LMG 9450.

---

**LITERATURA**

Brandt M. (2006): Sourdough for convenient use in baking, Elvise, Minden, 160-161

Clarke I., Schober J., Arendt K. (2000): Effect of single strain and traditional mixed strain starter cultures on rheological properties of wheat dough and on bread quality, Cereal Chemistry, Faculty of Food Technology and Biotechnology Zagreb, 640-647

Geddes, Kaiser, Lewus, Ross a kol. (1999): Developing applications for lactococcal bacteriocins, Gianotti A., Vannini L., Gobetti M., Corsetti A., Gardini F., Guerzoni M. (1997): Model of the activity of selected starters during sourdough fermentation, Food Microbiology, Elsevier, Brusel, 327-337

Charalampopoulos D., Rastall R. (2009): *Prebiotics and Probiotics Science and Technology*, Springer, Whiteknights, 1265 s.

Kluwer Academics, Dordrecht, 337-346

Lipská L., Visokai V. a kol. (2009): Recidivita kolorektálního karcinogenu, Grada Publishing, Praha, 431 s.

Šušković J., Kos B., Goreta J., Matošić S. (2001): Role of Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria in symbiotic Effect, Elsevier, Zagreb, 235 s.

Tannock G. (2007): Probiotics and Prebiotics – where are we going?, Caister Academic Press, Wymondham, 335 s.