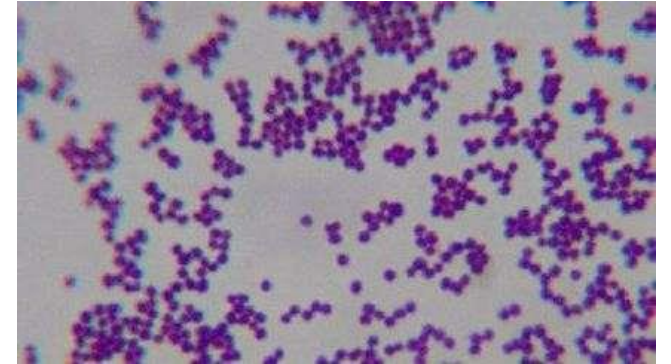


Bakterie mléčného kvašení a probiotika

Bakterie mléčného kvašení

- fermentují sacharidy za vzniku kyseliny mléčné
- G+ bakterie, nesporeující koky, kokobacily, bacily
- různé nároky na kultivační prostředí
- anaerobní, mikroaerofilní
- variabilita v metabolismu
- fylogeneticky heterogenní skupina mikroorganismů



Bakteri

■ fylogenetick

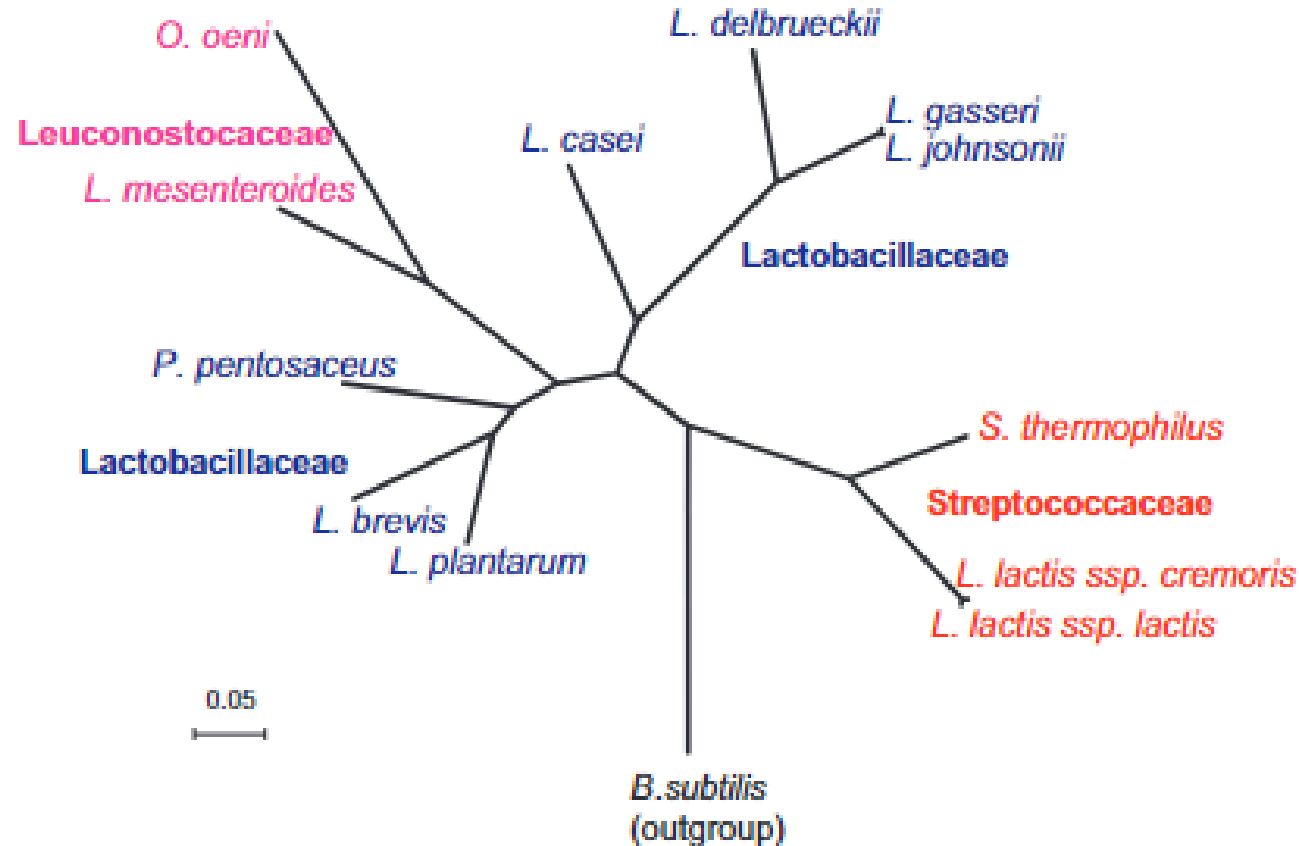


Fig. 1. Phylogenetic trees of *Lactobacillales* constructed on the basis of concatenated alignments of ribosomal proteins. All branches are supported at >75% bootstrap values. Species are colored according to the current taxonomy: *Lactobacillaceae*, blue; *Leuconostocaceae*, magenta; *Streptococcaceae*, red.

Comparative genomics of the lactic acid bacteria

K. Makarova^a, A. Slesarev^b, Y. Wolf^c, A. Sorokin^a, B. Mirkin^c, E. Koonin^{a,d}, A. Pavlov^b, N. Pavlova^b, V. Karamychev^b, N. Polouchine^b, V. Shakhova^b, I. Grigoriev^e, Y. Lou^e, D. Rohksar^e, S. Lucas^e, K. Huang^{e,f}, D. M. Goodstein^e, T. Hawkins^{e,f}, V. Plengvidhya^{g,h}, D. Welkerⁱ, J. Hughes^j, Y. Goh^j, A. Benson^k, K. Baldwin^k, J.-H. Lee^k, I. Diaz-Muniz^l, B. Dost^l, V. Smeianov^l, W. Wechter^m, R. Barabote^m, G. Lorcaⁿ, E. Altermann^o, R. Barrangou^o, B. Ganesan^o, Y. Xie^o, H. Rawsthorne^p, D. Tamir^p, C. Parker^p, F. Breidt^q, J. Broadbent^q, R. Hutkins^r, D. O'Sullivan^s, J. Steele^s, G. Unlu^s, M. Saier^m, T. Klaenhammer^{d,g}, P. Richardson^o, S. Kozyavkin^b, B. Weimer^{d,o}, and D. Mills^{d,p}

BMK – fermentace sacharidů

mikroorganismy využívají cukry jako zdroj energie - sacharolytické

glykolýza - glykos = sladký a lysis = rozpouštění, rozklad = kvašení

správný pojem kvašení - rozkladné procesy bezdušíkatých látek,
vyvolané enzymatickou činností saprofytických mikroorganismů

substrátem - sacharidy

hlavním meziproduktem kyselina pyrohroznová (pyruvát)

výsledný produkt dle typu fermentace

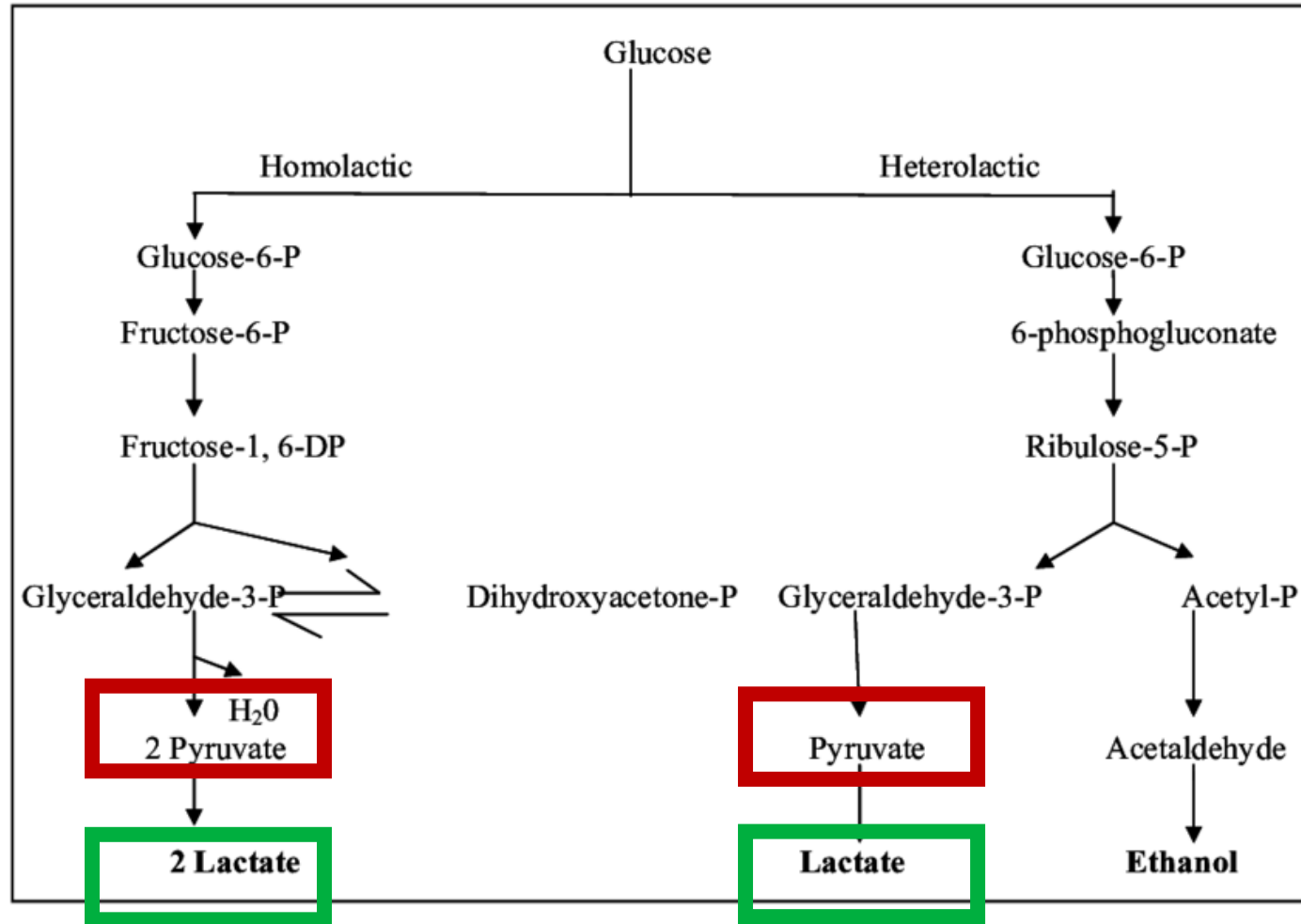
Typy fermentace

- etanolové kvašení
- mléčné kvašení
- propionové kvašení
- máselné kvašení
- kvašení polysacharidů

Mléčné kvašení

homofermentativní

heterofermentativní



Homofermentativní mléčné kvašení

- hlavním produktem kyselina mléčná
- pokles pH substrátu (vydrží až pH 3,6)
- k prodloužení trvanlivosti potravin (kysané zelí, kvašené okurky a zelenina)
- výroba mléčných výrobků (jogurtů, tvarohů, sýrů)
- výroba masných výrobků

Zástupci:

Lactobacillus delbrueckii subsp. *delbrueckii*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactiplantibacillus plantarum*

Heterofermentativní mléčné kvašení

- kromě kyseliny mléčné vytvářejí další různé vedlejší produkty například kyselinu octovou, jantarovou, etanol, oxid uhličitý, glycerol a vodík v různém množství
- při výrobě kefíru a některých druhů sýrů (charakteristická chuť, vůně a konzistence)
- nežádoucí a to hlavně při výrobě ovocných šťáv a vína

Zástupci:

*Lactobacillus brevis, Lactobacillus kefir, Lactobacillus viridescens,
Leuconostoc mesenteroides*

heterofermentativně zkvašují sacharidy také některé plísně

Fakultativně heterofermentativní bakterie

- zkvašují hexosy homofermentativně, pentosy heterofermentativně

Zástupci:

Lactobacillus, Lactococcus, Enterococcus, Streptococcus, Pediococcus, Vagococcus nebo *Tetragenococcus*

POZOR!

čeleď *Enterobacteriaceae* (ale i jiné) –

G- tyčinky, fermentují laktózu s produkcí kyselin, plynu a aldehydu

vzniká mnoho různých produktů - kyselina octová, mravenčí, mléčná, jantarová, ale i acetoin, 2,3-butandiol, vodík a oxid uhličitý

nejedná se o BMK

laktózo pozitivní rody
např.

Enterobacter

Escherichia

Klebsiella



<https://image.slidesharecdn.com/acinetobacter-alfredo2012060193-131125045920-phapp02/95/acinetobacter-14-638.jpg?cb=1385355795>

laktózo negativní rody
např.

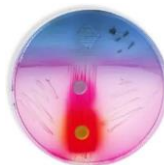
Salmonella

Proteus

Morganella

Providencia

https://www.biovendor.cz/d-images/2/4559/63596444134000000/Obr%C3%A1zek_98042.jpg.webp



Význam BMK

- součástí mikrobioty člověka i zvířat (dutiny ústní, GIT, URO)
- přirozeně se v přírodě (půda, rostliny)
- v potravinách živočišného původu i rostlinného původu
- využití v potravinářském průmyslu (startovací kultury) - výroba fermentovaných výrobků (metabolismus sacharidů, částečně proteolytické vlastnosti) vliv na aroma, chuť, vzhled, konzistenci
- antimikrobních látek - bioprezervace potravin

Mezofilní bakteriální kultury

- nejčastěji používané kultury nacházející uplatnění při výrobě téměř všech druhů mléčných výrobků
- charakteristické produkcí kyselin (inhibice patogenů), aromatických látek (diacetyl) a CO₂; jejich proteolytická aktivita je minimální
- *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*
- *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*
- *Leuconostoc lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis*
- *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris*
- *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *dextranicum*

Termofilní sýrařské kultury

- používají se hlavně při výrobě sýrů s vysokodohřívanou sýřeninou (např. ementál, parmazán), měkkých sýrů a tvarohů
- úlohou termofilních kultur je fermentace laktózy (napomáhá uvolňování H₂O vázané na kasein) a mírná proteolytická aktivita
- *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*
- *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*
- *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *lactis*
- *Lactobacillus helveticus*

Termofilní jogurtové kultury

- používají se při výrobě jogurtů, jogurtových mlék a podobných kysaných mléčných výrobků.
- *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*
- *Lactobacillus delbreckii ssp. bulgaricus*

- tvorba kyseliny mléčné - koagulace kaseinu (pH 5,3 - pH 4,5), proces trvá při 40 - 43 °C 2 - 3 hodiny
- hlavní složkou vůně jogurtů je acetaldehyd, který je produkován mezofilními (treonin) i termofilními (cukr) kulturami

- fáze streptokoková → fáze laktobacilů

Další mlékařské kultury jiné než BMK

Bakterie propionového kvašení

- sýry ementálského typu
- kyselina propionová, vitamín B12
- *Propionibacterium freudenreichii*

Kvasinkové kultury

- mléčné kvasinky se používají při výrobě másla, sýrů rokfortského typu, sýrů zrajících pod mazem, kefíru, kumysu
- např. *Torulopsis candida*, *Kluyveromyces lactis*, *Candida kefyr*

Plísňové kultury

- uplatnění při zrání sladkých i kyselých sýrů
- proteolytické a lipolytické vlastnosti
- *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camemberti*

Mikrobiologie fermentovaných masných výrobků

Startovací kultury

- **vybrané kmeny mikroorganismů** se specifickou metabolickou aktivitou, které se přidávají do díla fermentovaných salámů za účelem „řízení“ **procesu fermentace**
- nejčastěji směsné kultury: **bakterie mléčného kvašení** a čeleď ***Micrococcaceae***
- trvanlivé fermentované výrobky Poličan, Herkules, Lovecký salám, Parmská šunka
- tepelně neopracované



Nejčastější MO v komerčních startovacích kulturách masných výrobků

Bakterie mléčného kvašení:

- *Lactobacillus plantarum*, ***L. sakei***, *L. curvatus*, *L. pentosus*, *Lactococcus lactis*,
Pediococcus acidilactici, ***P. pentosaceus***

Grampozitivní, koagulázonegativní koky:

- ***Staphylococcus carnosus***, *S. xylosus*

Kvasinky:

- *Debaryomyces hansenii*

Plísně:

- *Penicillium nalgiovense*

Význam BMK

- nežádoucí kontaminace
- způsobují chuťové vady výrobků (pivo, víno, ..)
- samovolné kysnutí mléka (zvýšená titrační kyselost, nakyslé aroma a chuť)
- při výrobě uzenin zelenání prátů a hotových výrobků
- vakuové balení nebo balení v modifikované atmosféře zvýhodňuje fakultativně anaerobní bakterie včetně BMK a *Brochothrix thermosphacta*
- rody *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Carnobacterium* a *Enterococcus*

Probiotika – definice pojmu

cíleně vybrané živé mikroorganismy,

které při podávání v dostatečném množství

vykazují přínos pro zdraví jedince

Probiotics in food Health and nutritional properties and guidelines for evaluation

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

Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting
Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food
London, Ontario, Canada, 30 April–1 May 2002

FAO
FOOD AND
NUTRITION
PAPER

85



Probiotika – definice pojmu

cíleně vybrané **živé mikroorganismy**

rod *Lactobacillus*

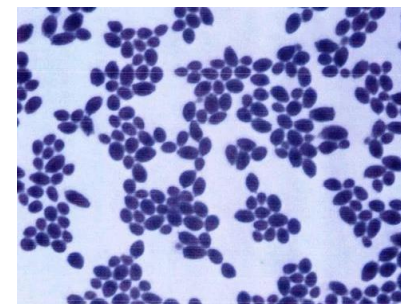
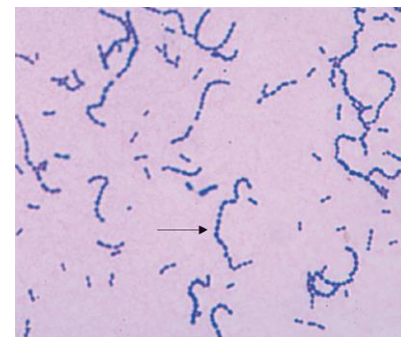
acidophilus, casei, helveticus,..

rod *Bifidobacterium*

bifidum, breve, ..

Streptococcus thermophilus, Lactococcus lactis,..

Saccharomyces cerevisiae



Probiotika – definice pojmu

které při **podávání** (nemusí být jen orální cestou)

v dostatečném množství

na konci doby použitelnosti alespoň tolik živých mikroorganismů, kolik bylo použito v klinické studii

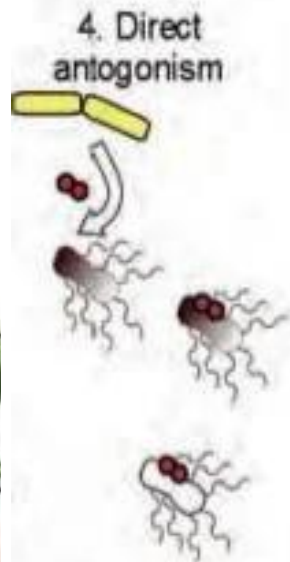


Probiotika – definice pojmu

vykazují **přínos** pro **zdraví jedince** - měl by se projevit v cílové populaci



Probiotika – předpokládaný mechanismus účinku

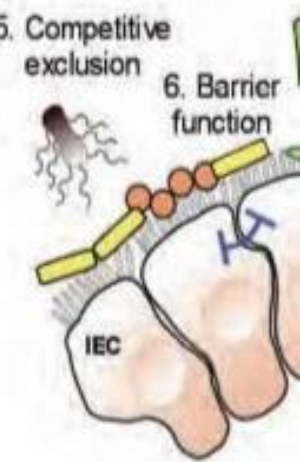


antagonismus,
produkce
antimikrobiálních
látek

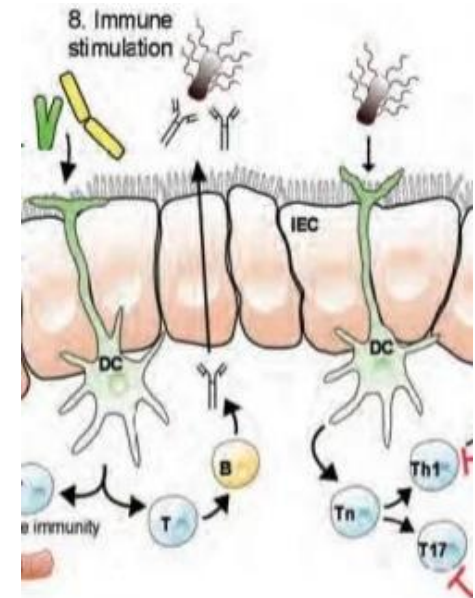
imunomodulace

kompetice -
adheze, živiny

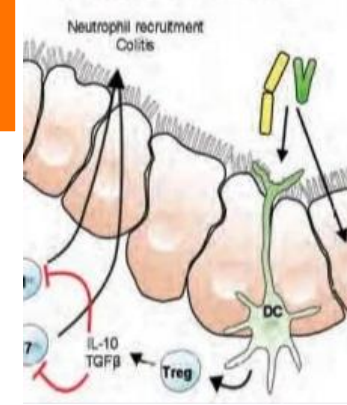
inaktivace
bakteriálních
toxinů



1. Competition for nutrients and prebiotics



7. Reduction of inflammation



!účinek je kmenově specifický!

Prebiotika - definice pojmů

jsou nestravitelné složky potravy, které ovlivňují růst a/nebo aktivitu probiotik, podílejí se tak na zlepšení zdraví jedince

PROBIOTIKA	PREBIOTIKA
živé mikroorganismy (bakterie, kvasinky)	nestravitelné látky – zdroj energie pro mikroorganismy
doplňky stravy i přirozeně v potravinách – kysané výrobky (jogurty, kefír, zelenina)	doplňky stravy i přirozeně v potravinách – čekankový kořen, cibule, česnek, pórek, banány



https://www.google.com/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fwww.blendea.cz%2Fwp-content%2Fuploads%2F2019%2F11%2Fzdroje-prebiotik.jpg&tbid=JZix72ybKx7S8M&vet=12ahUKEwj65_7JsbP_AhX1hP0HHbS0AS0QMygVegUIARDkAQ..i&imgrefurl=https%3A%2F%2Fwww.blendea.cz%2Fprebiotika%2F&docid=6QS05ro_gj1k4M&w=1200&h=628&q=prebiotika&client=firefox-b-d&ved=2ahUKEwj65_7JsbP_AhX1hP0HHbS0AS0QMygVegUIARDkAQ

Prebiotika - příklady

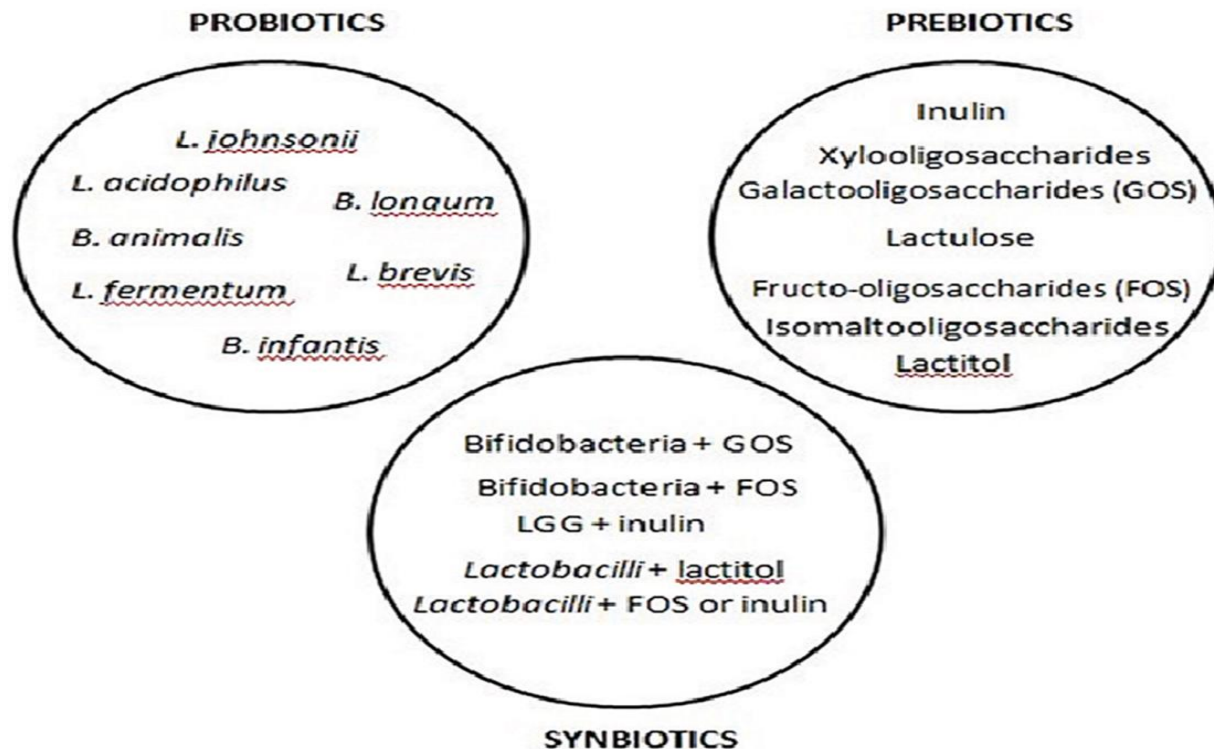
- inulin (kořen čekanky, cibule, česnek, banány..)
- frukto-oligosacharidy
- galakto-oligosacharidy
- SOS (sója), XOS (xylan), IMO (maltóza)

Kandidátní prebiotika:

- polyfenoly – hroznová semínka, borůvky, ..
- polysacharidy (řasy, lotosové semínko,..)
- polypeptidové polymery – produkty fermentace (*Bacillus sp.*)

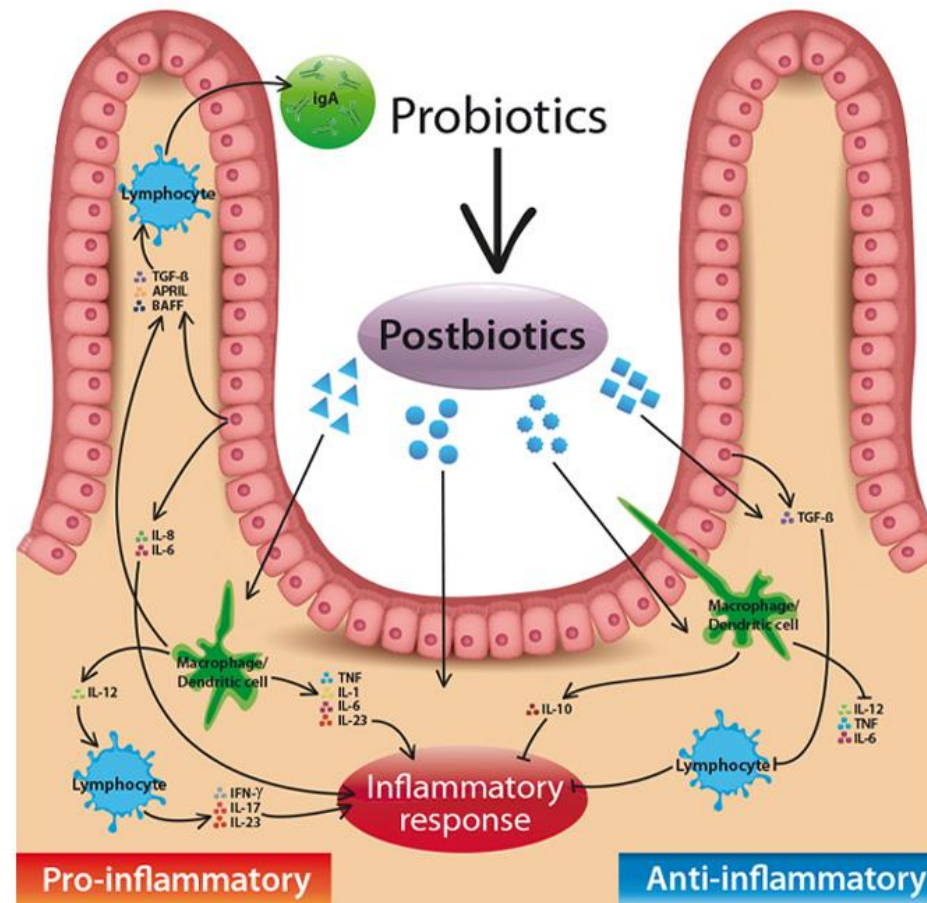
Synbiotika - definice pojmů

kombinace probiotik a prebiotik, napomáhají přežívání mikroorganismů a zvyšují efekt probiotik



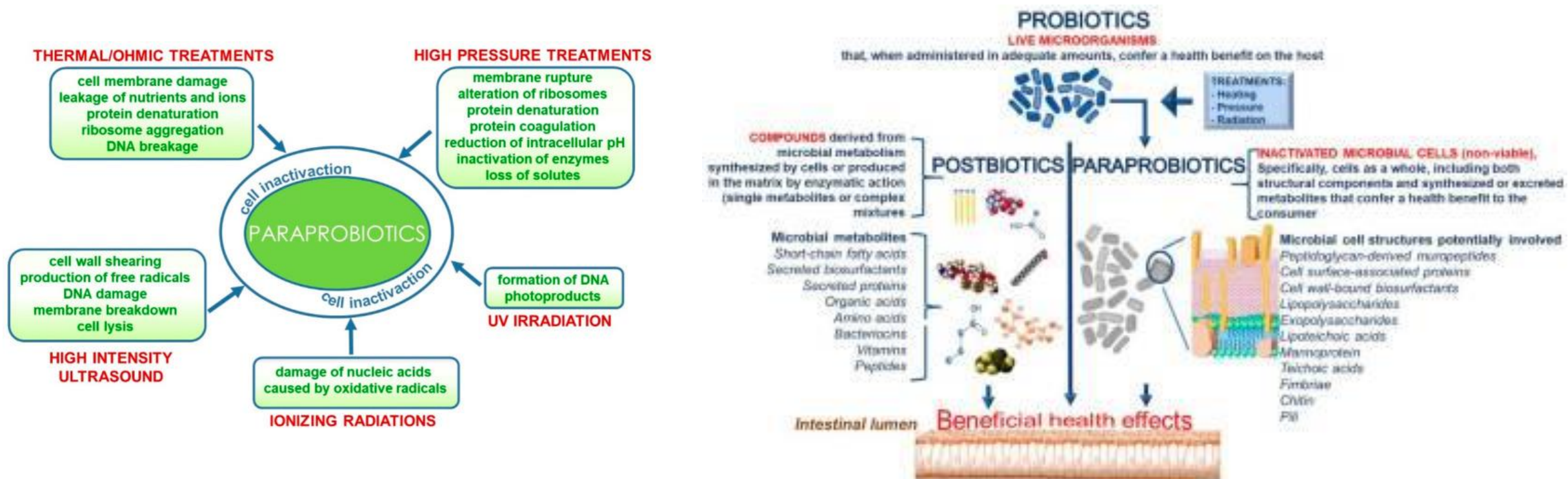
Postbiotika - definice pojmů

produkty metabolismu probiotik

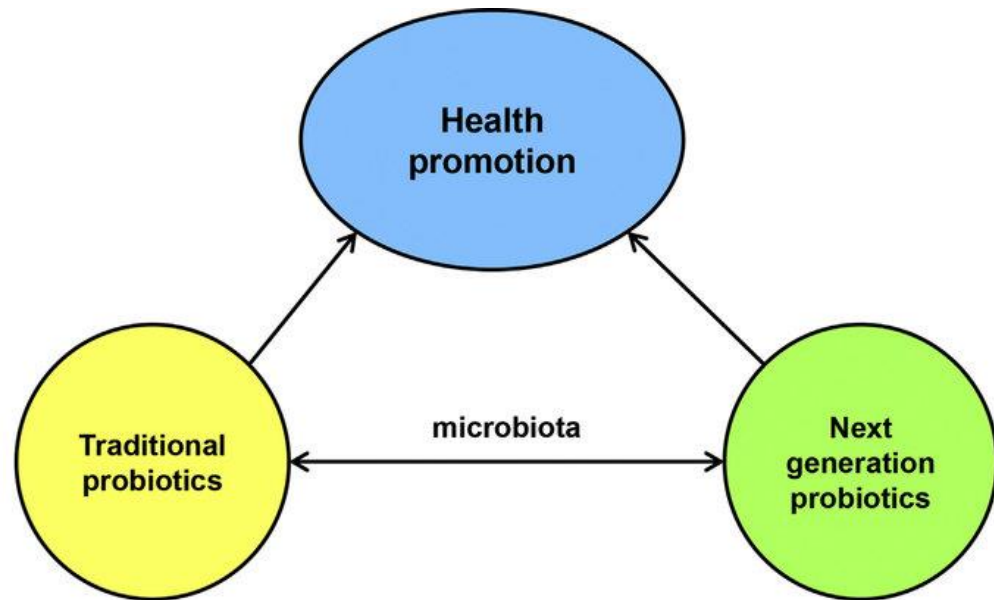


Parabiotika – definice pojmu

- neživé/inaktivované probiotické mikroorganismy



Probiotika nové generace



Feacalibacterium prausnitzii
Akkermansia muciniphila
Bacteroides thetaiotaomicron



Investiture of next generation probiotics on amelioration of diseases –
Strains do matter

Tzu-Lung Lin ^{a,b,c,d}, Ching-Chung Shu ^e, Wei-Fan Lai ^f, Chi-Meng Tzeng ^g, Hsin-Chih Lai ^{a,b,c,d,h,*},
Chia-Chen Lu ^{i,j,**}

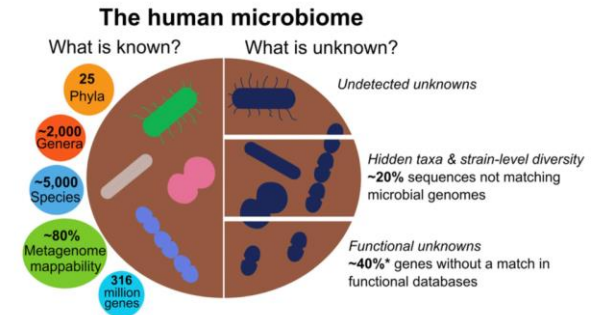
Mikrobiom

Genetická definice

- soubor genů všech mikroorganismů přítomných v určitém prostředí

Ekologická definice

- charakteristická mikrobiální komunita, která obývá určitý racionálně vymezený prostor s typickými fyzikálními a chemickými podmínkami
- zahrnuje také jejich pole působnosti, v kterém se formují specifické ekologické niky
- dynamický a interaktivní mikro-ekosystém podléhající změnám v čase, je propojen s makro-ekosystémy včetně eukaryotických hostitelů



Microbiome

Microbiota

Bacteria

Archaea

Fungi

Protists

Algae

+ “Theatre of activity”

Microbial structural elements

Proteins/
peptides

Lipids

Poly-
sacharides

Nucleic acids
structural DNA/RNA

mobile genetic elements
incl. viruses/phages relic DNA

Internal/external structural elements

Environmental
conditions

Microbial metabolites

Signalling
molecules

Toxins

(An)organic
molecules

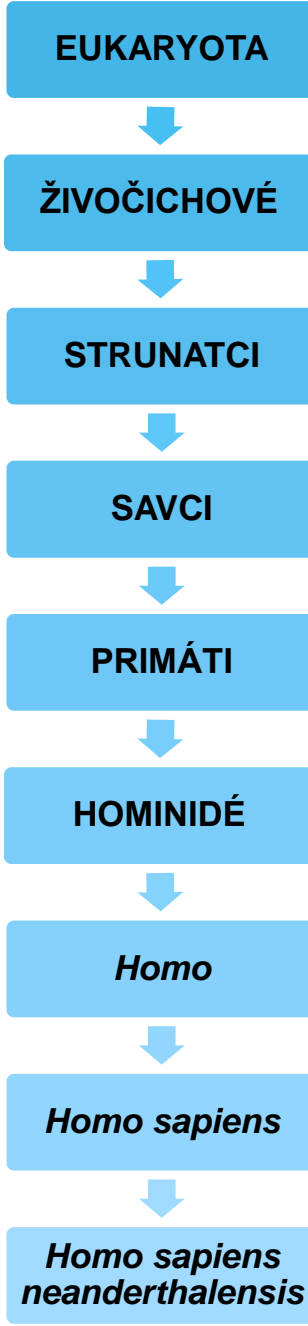
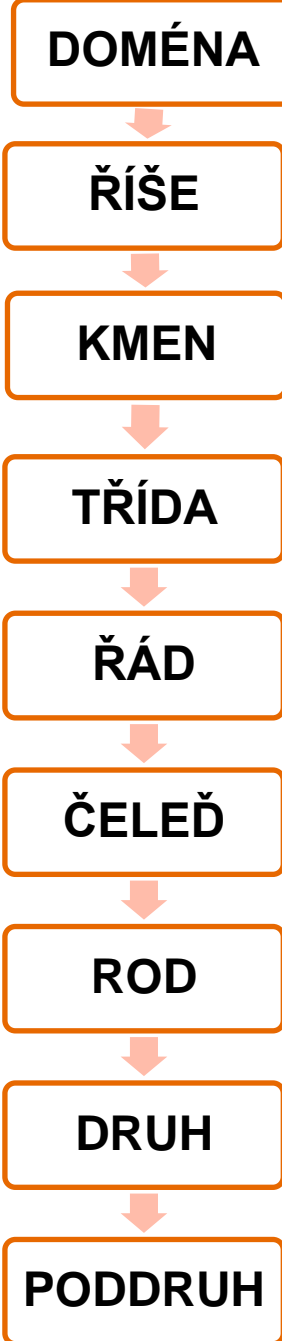
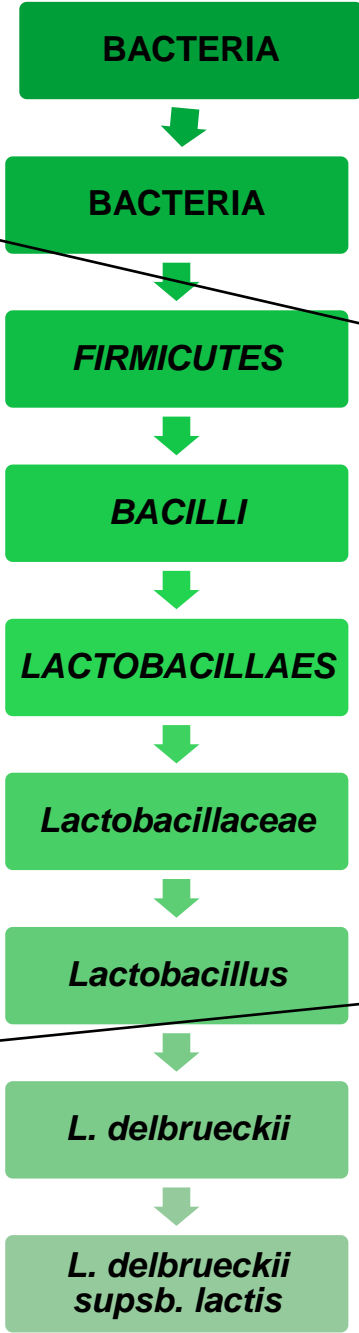
Biome: a reasonably well defined habitat which has distinct bio-physio-chemical properties

Mikrobiota

– soubor všech mikroorganismů (bakterie, plísně, viry, prvoci) v tomto prostředí
(~~dříve mikroflóra~~)

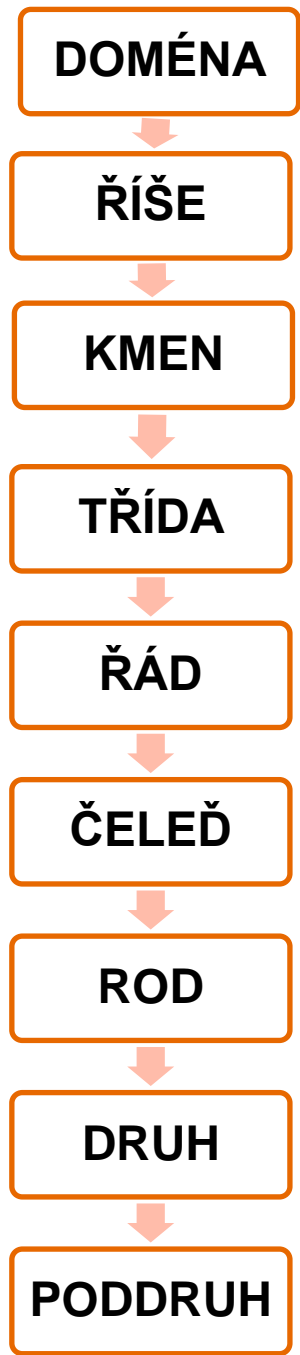


identifikace mikrobiomu na úrovni poměrového zastoupení mikrobiálních kmenů



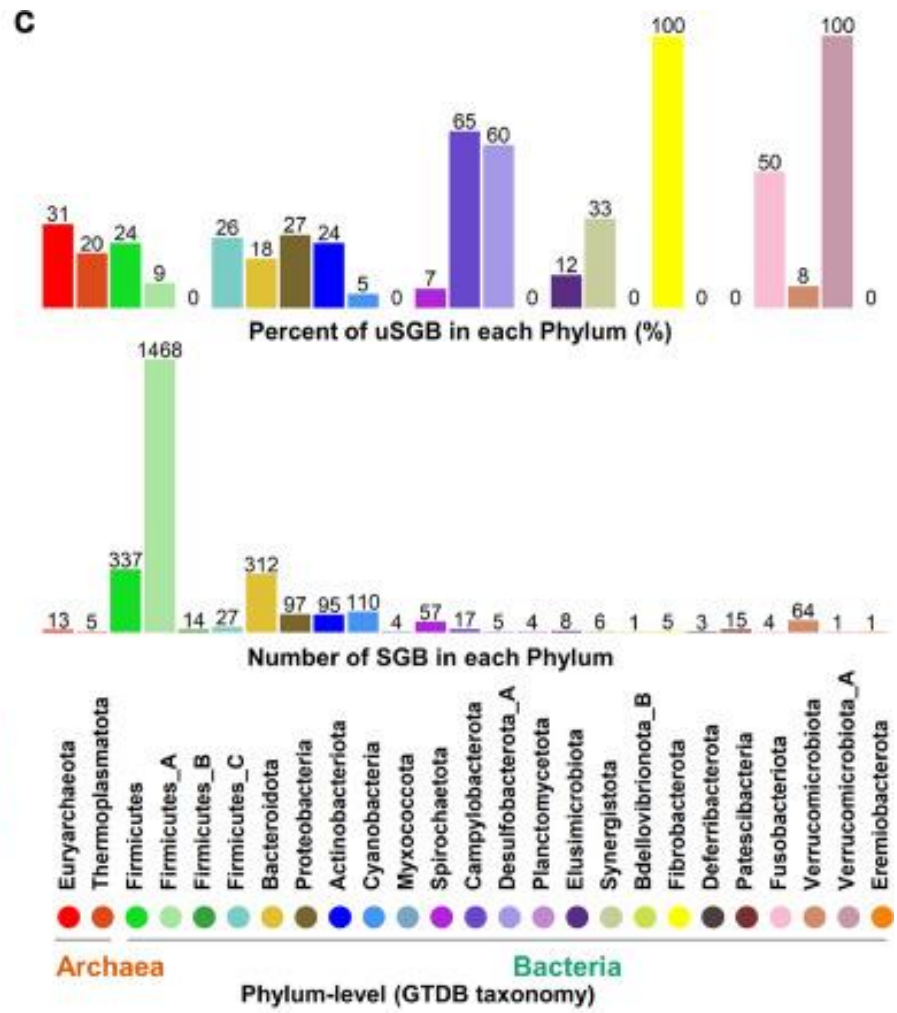
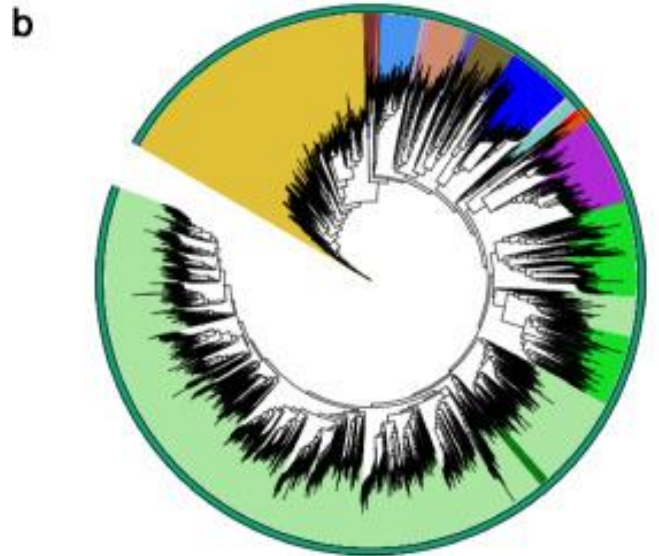
identifikace bakterií na úrovni rodu, malá část spolehlivě na úrovni druhu





a

Levels	# MAG	# Unique taxa
Kingdom	6339	2
Phylum	6339	25
Class	6338	30
Order	6319	70
Family	6219	163
Genus	4783	497
Species	865	365



Taxonomic annotation and phylogenetic tree of 6339 metagenome-assembled genomes (MAGs).

Chen C, Zhou Y, Fu H, Xiong X, Fang S, Jiang H, Wu J, Yang H, Gao J, Huang L. Expanded catalog of microbial genes and metagenome-assembled genomes from the pig gut microbiome. Nat Commun. 2021 Feb 17;12(1):1106.

Děkuji za pozornost!