

DOLOČANJE VRST IN ŠTEVILA PROBIOTIČNIH BAKTERIJ V IZDELKIH MLEKARNE CELEIA

Probiotični izdelki imajo že od nekdaj sloves zdravih proizvodov in predstavljajo pomemben del prehrane ljudi. Znano je, da probiotične bakterije pozitivno učinkujejo na črevesno mikrofloro in na gostitelja. V zadnjih treh desetletjih se veliko raziskovalcev na področju prehrane in zdravja ukvarja z vprašanjem, kako izboljšati zdravje ljudi z uživanjem živih mikroorganizmov, ki so jih poimenovali probiotiki.

Povpraševanje po različnih izdelkih, ki vsebujejo probiotične bakterije, je vse večje. Tako je v fermentiranih mlečnih izdelkih osnovni jogurtovi kulturi, ki jo sestavljata *Streptococcus thermophilus* in *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, pogosto dodana probiotična kultura, ki ni potrebna za fermentacijo mleka, ampak je njen glavni namen pozitivno učinkovanje na zdravje človeka.

Uživanje izdelkov, ki vsebujejo probiotične kulture, lahko vpliva na gostitelja posredno, preko spreminjanja sestave črevesne mikroflore, ali pa neposredno. Med pozitivnimi učinki na zdravje omenjajo vzdrževanje ravnotežne mikroflore v črevesju, lajšanje simptomov laktozne intolerance in povečanje odpornosti proti črevesnim patogenim bakterijam. Probiotiki lahko tudi preprečijo ali omilijo diarejo preko delovanja na imunski sistem organizma. Pomagajo pri celjenju želodčnih razjed. Nekaterim probiotičnim bakterijam pripisujejo aktivnosti pri preprečevanju tumorjev. Probiotiki imajo dokazan učinek tudi pri alergijskih boleznih.

Izdelke, ki vsebujejo probiotične bakterije, uvrščajo v skupino funkcionalne hrane. To je hrana, ki poleg tega, da oskrbuje organizem z osnovnimi hranili, preprečuje obolenja oziroma prispeva k boljšemu zdravstvenemu stanju. Da pa bi probiotični izdelki izpolnili pričakovanja, morajo vsebovati zadostno količino živih probiotičnih bakterij vse do konca roka uporabnosti. Število probiotičnih bakterij ni predpisano z zakonodajo niti v Sloveniji niti v drugih državah, obstajajo pa priporočila, ki so rezultat številnih raziskav širom po svetu. V splošnem velja, da naj bi ob zaužitju probiotičen pripravek vseboval vsaj 10^6 ke*/ml ali ke/g probiotičnih bakterij. Dnevno pa naj bi za pozitivni učinek na zdravje človek zaužil skupaj 10^8 do 10^9 ke probiotičnih bakterij. Združenje »The Fermented Milks and Lactic Acid Beverages Association«, katerega sedež je na Japonskem, je predstavilo nekoliko ostrejši standard za minimalno koncentracijo, ki je za sveže mlečne izdelke najmanj 10^7 ke živih probiotičnih bakterij v ml ali g izdelka.

V obdobju od avgusta do oktobra 2007 smo v sodelovanju z oddelkom Katedre za mlekarstvo na Biotehniški fakulteti v Domžalah izvajali raziskavo, v kateri smo ugotavljali preživelost probiotičnih bakterij med fermentacijo in skladiščenjem fermentiranih izdelkov. Analizirali smo šest probiotičnih izdelkov Mlekarne Celeia.

*ke/g-kolonijske enote na gram izdelka

Od tega so bili trije izdelki predstavniki navadne linije in trije izdelki predstavniki sadne linije (izdelek s sadnim dodatkom).

Ugotavljali smo število probiotičnih bakterij, ki so bile deklarirane s strani proizvajalca starterskih kultur, in sicer dve predstavnici laktobacilov, *L. casei* in *L. acidophilus* ter eno predstavnicu bifidobakterij, *Bif. lactis*. Slednje so bile sicer deklarirane le kot *Bifidobacterium*.

Za analizo preživelosti smo med tehnološkim postopkom izdelave in skladiščenja izdelka izbrali ključne časovne intervale, v katerih smo jemali vzorce za ugotavljanje števila živih probiotičnih bakterij s konvencionalno metodo štetja kolonij na hranljivih selektivnih podlogah. Z uporabo molekularne metode PCR na DNA, izolirani iz kolonij, ki so zrasle na selektivnih gojiščih in gelske elektroforeze, pa smo potrjevali prisotnost posameznih vrst probiotičnih bakterij.

Pri primerjavi števila posamezne vrste probiotičnih bakterij v različnih navadnih in sadnih izdelkih smo ugotovili, da dodatek sadne mase v izdelek ne vpliva negativno na rast mikrobne populacije probiotičnih bakterij.

Najboljšo rast mikrobne populacije med procesom fermentacije smo ugotovili pri probiotični bakterijski vrsti *L. acidophilus*.

Med samo fermentacijo probiotičnega jogurta v povprečju najslabše prirašča mikrobna populacija bifidobakterij, medtem ko bakterijam vrste *L. casei* pogoji fermentacije bolj ustrezajo. Med skladiščenjem izdelkov pri 4 °C smo najmanj sprememb v številu živih celic zaznali pri predstavnikih laktobacilov, medtem ko je imelo skladiščenje na *Bif. lactis* večji vpliv.

Z reakcijo PCR smo uspeli potrditi prisotnost deklariranih probiotičnih bakterijskih v vseh izdelkih, obravnavanih v raziskavi. DNA, ki smo jo uporabili v reakciji PCR, smo izolirali iz kolonij, zraslih na selektivnih gojiščih.

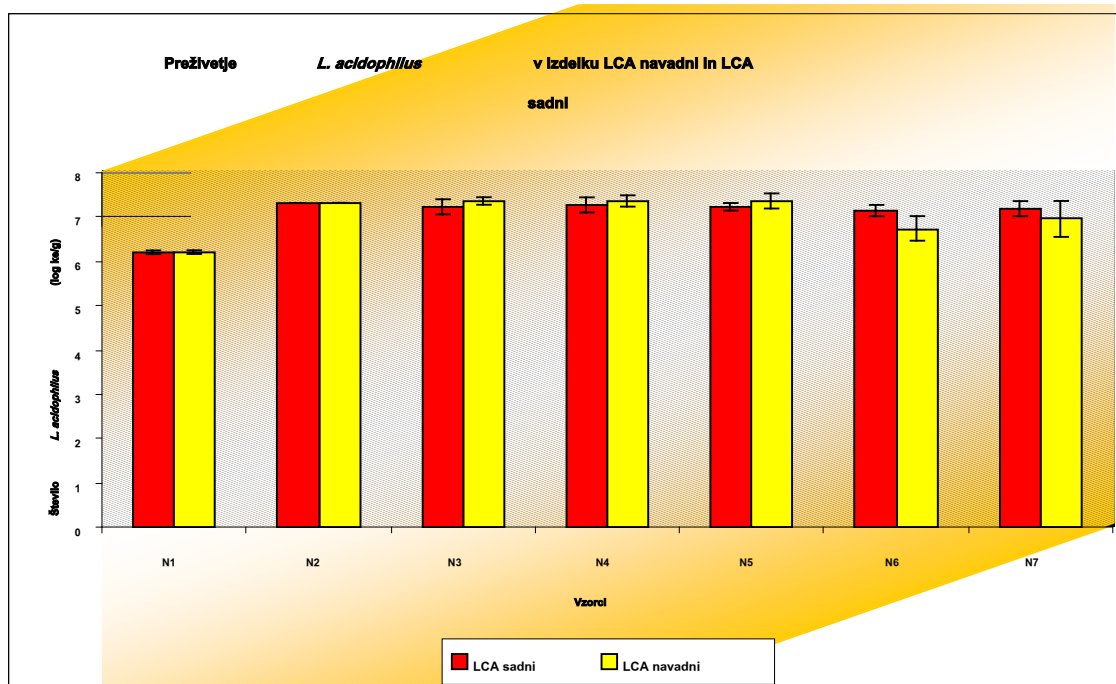
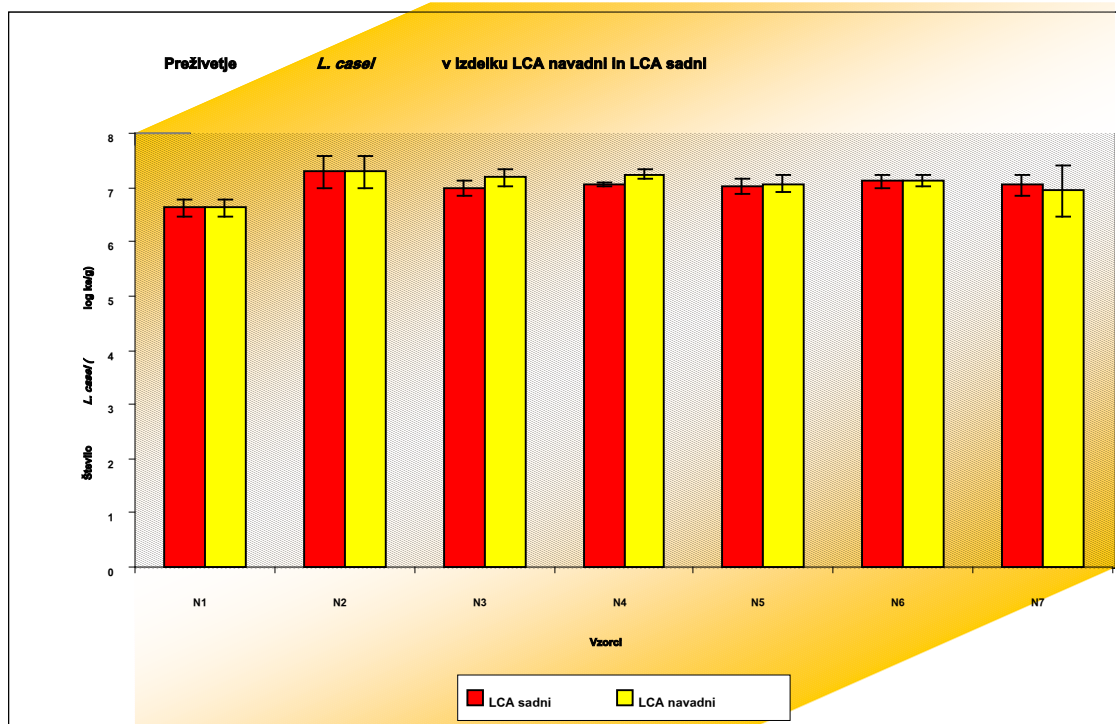
Bifidobakterije so na izdelkih deklarirane le kot rod *Bifidobacterium*, mi pa smo uspeli z molekularno metodo dokazati vrsto *Bif. lactis*.

Zadnji dan roka trajanja izdelka (25. dan od izdelave izdelka) je skupno število probiotičnih bakterij v vseh analiziranih izdelkih presegalo vrednost 10^7 ke/g, kar velja za strožji kriterij pri uvrstitvi izdelka med probiotike.

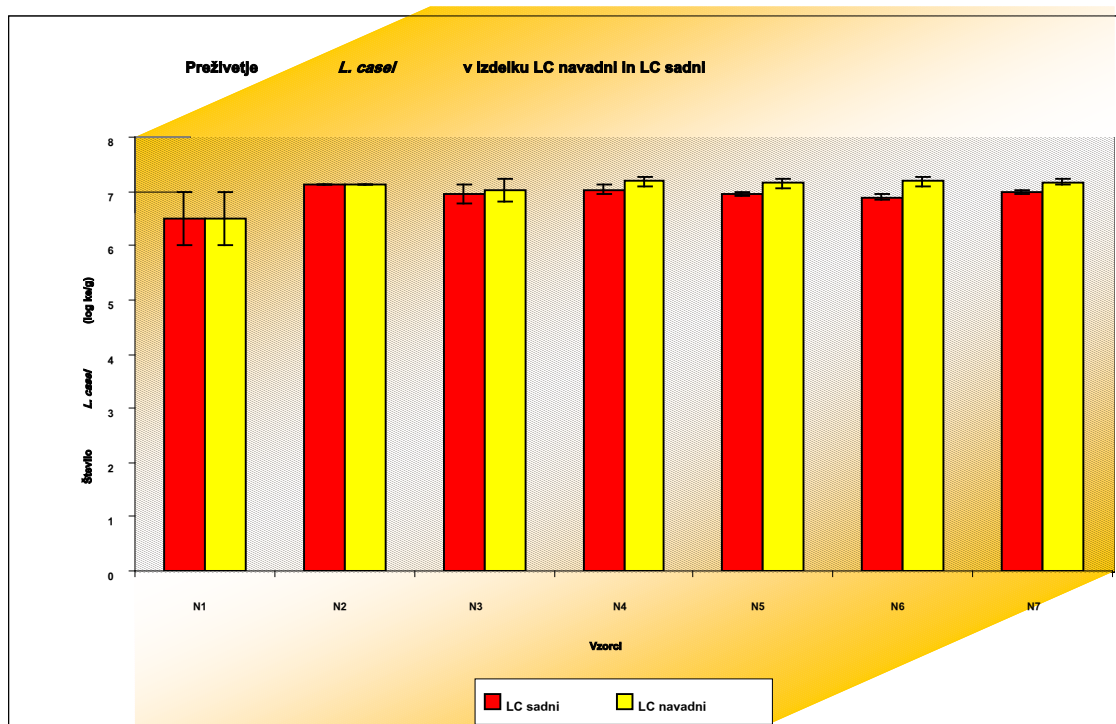
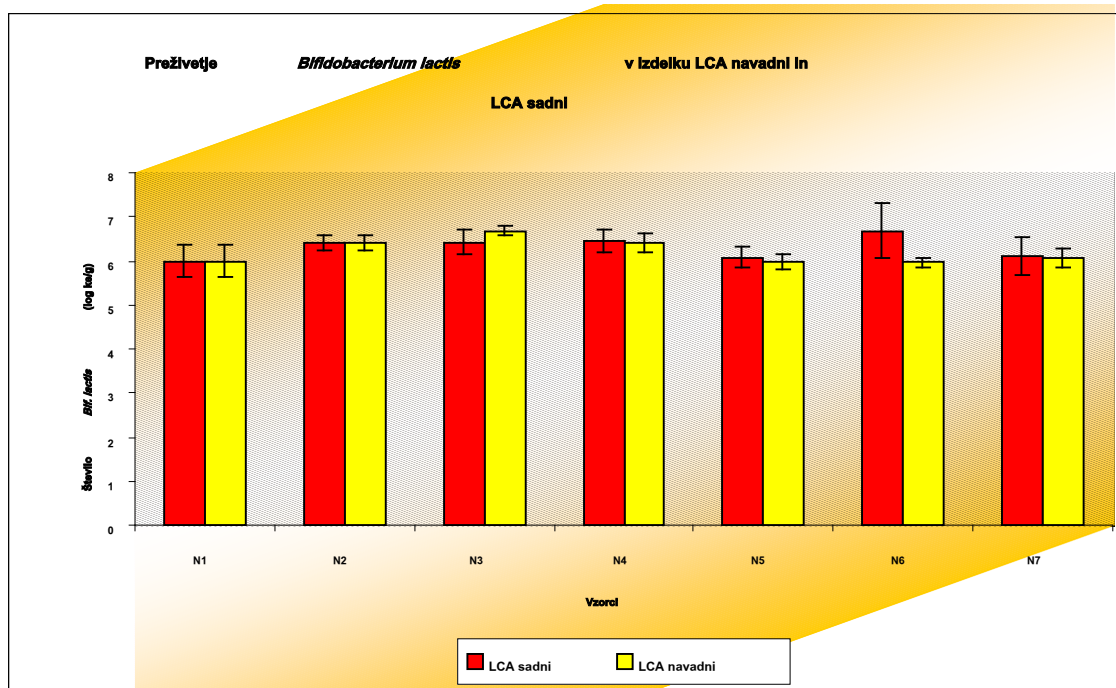
Glede na vse večje zanimanje ljudi za probiotične izdelke in njihove pozitivne učinke na zdravje, bi bilo smiselno podati točne smernice, po katerih bi se probiotični pripravki ločili od navadnih fermentiranih izdelkov. Tako bi lahko na slovenskem tržišču izključili zavajanje potrošnika in zaslužen naziv probiotičnega izdelka podelili resnično tistim, ki bi ustrezali znanstvenim kriterijem.

Na sledečih slikah je grafično prikazano število posameznih probiotičnih bakterij v vzorcih različnih fermentiranih izdelkov, odvzetih v različnih fazah tehnološkega postopka in med skladiščenjem. Posamezen izdelek je bil analiziran v treh šaržah, po dve paralelki v vsaki šarži. Grafično so prikazani rezultati povprečij.

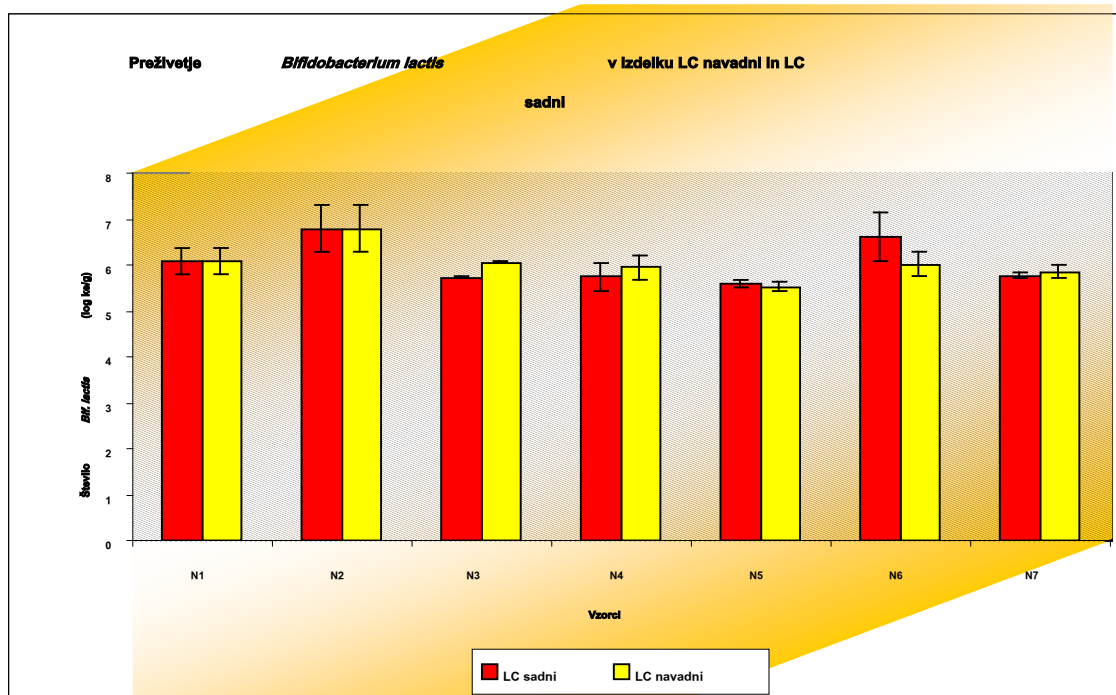
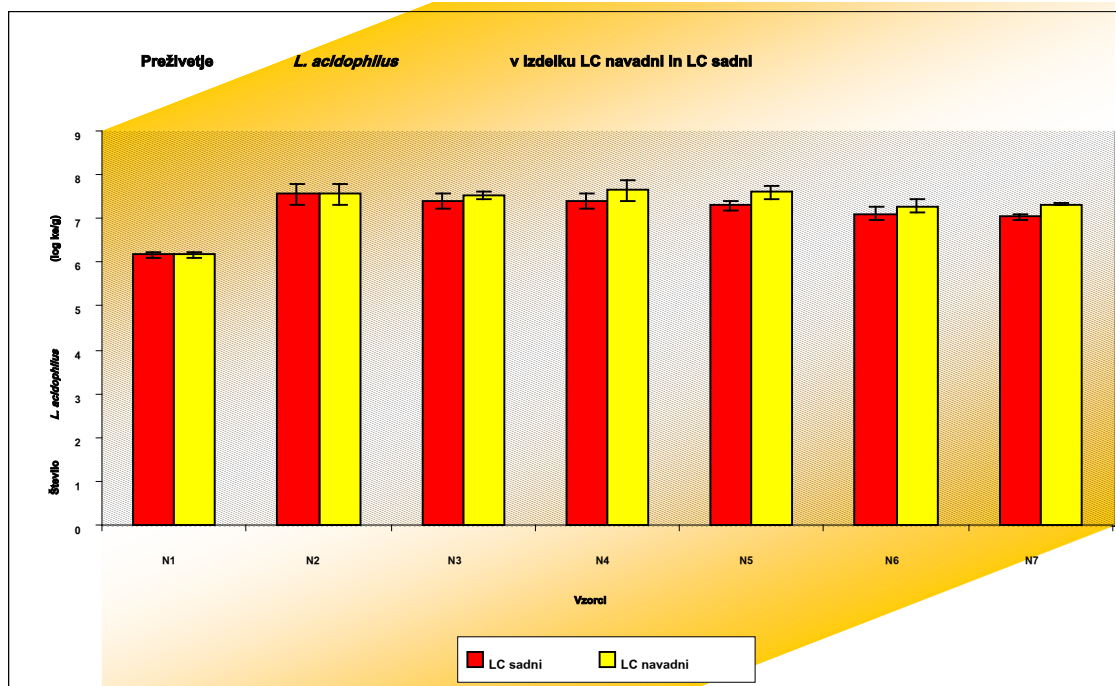
Legenda k slikam: Število bakterij vrste ... v navadnem in sadnem izdelku ... (N1 = vzorec ~20 minut po cepljenju kulture, N2 = vzorec po fermentaciji, N3 = vzorec po ~ 18. urah hlajenja, N4 = vzorec po 1. tednu skl., N5 = vzorec po 2. tednu skl., N6 = vzorec po 3. tednu skl., N7 = vzorec zadnji dan roka trajanja)



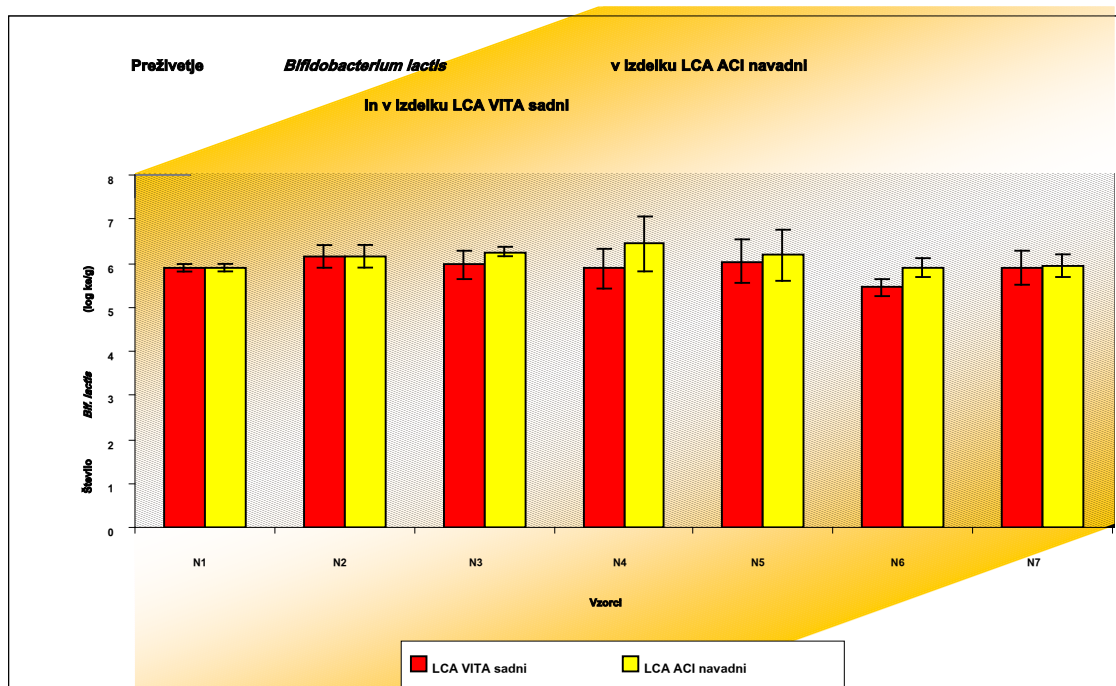
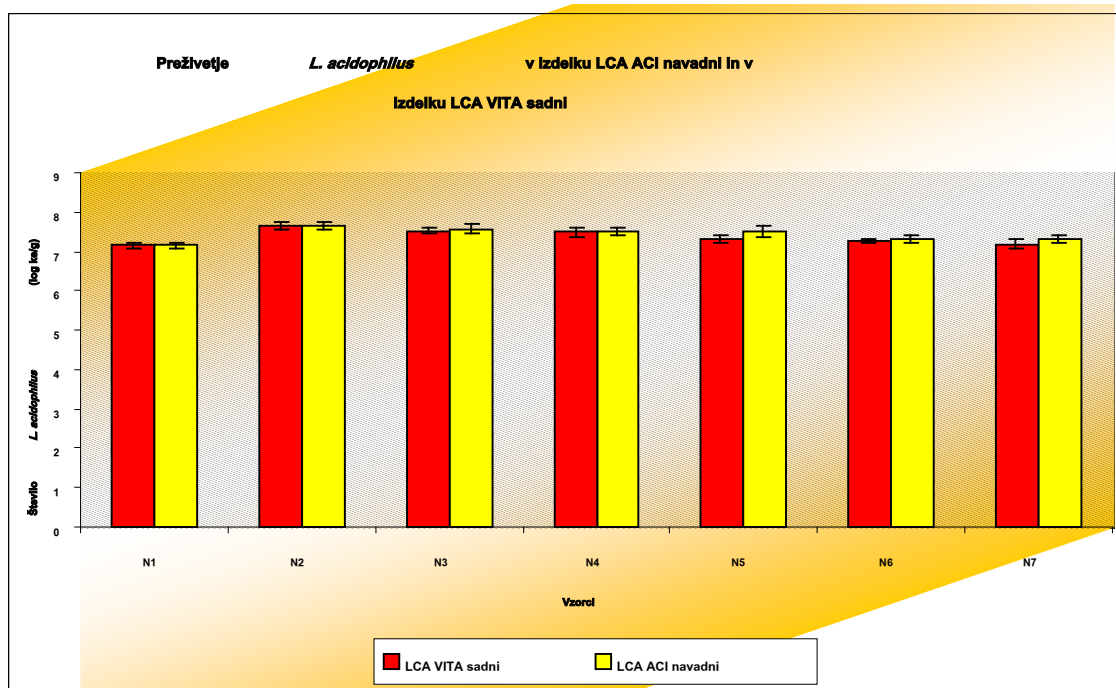
*ke/g-kolonijske enote na gram izdelka



*ke/g-kolonijske enote na gram izdelka



*ke/g-kolonijske enote na gram izdelka



Zaključek raziskave je sledeč:

- Med fermentacijo so se od treh vrst probiotičnih bakterij največ namnožile bakterije vrste *L. acidophilus* in sicer za 3 do 24-krat. Bifidobakterije so se tekom procesa fermentacije najmanj namnožile, in sicer le za 2 do 5-krat, vrste *L. casei* pa od 4 do 5-krat.

*ke/g-kolonijske enote na gram izdelka

- Takoj po zaključeni fermentaciji smo v 1g probiotičnih izdelkov ugotovili od $7,0 \cdot 10^6$ do $3,7 \cdot 10^7$ ke *L. casei*, od $1,6 \cdot 10^7$ do $6,3 \cdot 10^7$ ke *L. acidophilus* in od $5,2 \cdot 10^5$ do $1,5 \cdot 10^7$ ke *Bif. lactis*.
- Skladiščenje je najmanj vplivalo na probiotično bakterijo *L. acidophilus*, *L. casei* je dobro obstojen med skladiščenjem, najbolj občutljiv za celoten tehnološki postopek pa je *Bif. lactis*.
- Zadnji dan roka trajanja smo v 1 g probiotičnih izdelkov ugotovili od $6,1 \cdot 10^6$ do $1,8 \cdot 10^7$ ke *L. casei*, od $2,0 \cdot 10^6$ do $2,5 \cdot 10^7$ ke *L. acidophilus* in od $1,5 \cdot 10^5$ do $2,3 \cdot 10^6$ ke *Bif. lactis*. Medtem ko je število bakterij *L. acidophilus* in *L. casei* zadostilo tudi strožjemu kriteriju glede zahtevane vsebnosti ($10^7/g$), pa je bilo število bifidobakterij na meji priporočenih najnižjih vrednosti ($10^6/g$) na spodnji priporočeni vrednosti.
- Vse analizirane izdelke lahko upravičeno poimenujemo »probiotični izdelki«, saj do konca uporabnosti izdelka vsebujejo več kot 10^6 ke probiotičnih bakterij, torej nad priporočenim najmanjšim številom, ki naj bi še zagotavljalo pričakovane funkcionalne učinke.

Za zaključek povzemimo misel, ki jo je že davnega leta povedal Hipokrat, ki ga mnogi imenujejo z vzdevkom oče znanstvene medicine "**Let food be your medicine and let medicine be your food**". To »zdravilo«, ki se skriva v kozarčku in je naravna hrana naj bo del vašega vsakdana, saj veste – za zdravje gre!