

EVALUATION OF THE GROWTH OF SELECTED LACTOBACILLI IN PSEUDOCEREAL SUBSTRATE

Jana Pelikánová, Denisa Liptáková, Eubomír Valík, Katarína Stančeková

ABSTRACT

The growth dynamics of *Lactobacillus* spp. in sweet water- and milk-based substrates from cooked buckwheat and amaranth flour were studied in this work. The numbers of lactobacilli were observed during fermentation in 5% CO₂ atmosphere at 37 °C and storage (3 weeks at 6 °C). The earned data and estimated growth parameters showed that certain strains grew well in the milk-based gruels, even water-based amaranth gruel. This was also the case of the species under study characterized with the fastest growth. Based on the rates, only the strains of *Lactobacillus rhamnosus* GG and VT1 were able to grow with the values higher than 0.6 log CFU.ml⁻¹.h⁻¹ that can be expressed as the times to double (t_d) lower than 0.5 h. This was found in both the amaranth and buckwheat milk-based gruels and water-based amaranth gruels but fermented only by the probiotic GG strain. The 3-week storage tests aimed on survival of the lactobacilli at 6 °C showed minimal decrease of the counts in buckwheat gruels with the average rates of -0.084 and -0.004 log CFU.ml⁻¹.d⁻¹ in water- and milk-based gruels, respectively. On the other hand in amaranth gruels, the numbers of lactobacilli slightly increased with the rate of 0.02 log CFU.ml⁻¹.d⁻¹, on average. The results of this pilot study pointed out that the selection of suitable lactic acid bacteria should be performed for optimal fermentation of pseudo-cereal substrates. The numbers of lactobacilli at the end of fermentation were not or very slightly affected by the type of substrate at 6 °C during three weeks.

Keywords: probiotic, lactic acid bacteria, pseudocereals

ÚVOD

Medzi tradičné fermentované cereálne poživatiny zahŕňame obyčajne chlieb a kvasené nápoje, ako pivo, saké a iné. Vývoj potravín podporovaný viacerými výskumnými štúdiami ďalej vychádzal z tohto základu, nakoľko cereálie sú ľahko dostupné, pestujú sa približne na 73 % plochy obrábanej pôdy. Vyznačujú sa tiež vysokým obsahom niektorých vitamínov, vlákniny s prebiotickou funkciou a minerálnych látok. Skutočnosť, že môžu obsahovať niektoré antinutričné faktory, ako kyselinu fytovú, niektoré polyfenoly a enzýmové inhibitory, vedie výskumníkov k snahe obohatiť tieto substráty mliekom a okrem nutričného, zvýšiť aj ich fermentačný potenciál. Na druhej strane, so zvyšovaním sa incidencie potravinových alergií a intolerancií v ľudskej populácii sa všeobecne vo výžive a tiež i pred výskumníkmi zaoberajúcimi sa fermentáciami potravín objavili ďalšie vhodné substráty, ako napríklad pseudocereálie alebo prípadne strukoviny (Kocková a Valík, 2011; Moroni et al. 2011; Kohajdová et al., 2011). Napredujúci vývoj vhodne fermentovaných výrobkov vyrobených na báze týchto substrátov, vrátane probiotických, môže viesť nielen k obohateniu stravovania celiatikov, potravinových alergikov alebo inak metabolicky hendikepovaných ľudí, ale aj k vyváženiu stravovania zdravých ľudí.

Celiakia patrí k jedným z najčastejšie sa vyskytujúcich chronických ochorení v západných krajinách. Pred pár desiatkami rokov sa považovala za relatívne zriedkavú chorobu s výskytom jedného z 2500 obyvateľov (1:2500). V súčasnosti postihuje svetovú populáciu s výskytom 1:100 až 1:300 (Bai et al., 2007), pričom riziko tohto ochorenia sa zvyšuje tým, že sa môže objaviť kedykoľvek v priebehu života (Adams, 2007). Celiakia je známa

aj ako glutén senzitivná enteropatia. Toto ochorenie je charakterizované sekundárnou malabsorpciou, kedy sa deštruuje črevný epitel, zmenšuje sa črevná resorpčná plocha, a tým dochádza k malabsorpcii všetkých súčastí potravy (Turčáni a Maasová, 2002). Klinická i histologická náprava stavu pacienta s celiakiou nastáva pri striktnej bezlepkovej diéte (Krajčírová, 2007).

Súčasný trh poskytuje viac možností bezlepkového stravovania ako tomu bolo pred niekoľkými rokmi. Je však aj naďalej nutné, aby sa pozornosť potravinárskeho priemyslu obrátila na vývoj nových funkčných potravín, ktoré sú vhodné pre bezlepkovú diétu. Z nutričného hľadiska sú zaujímavé náhrady reálnych cereálií – tzv. pseudocereáliami, ktoré môžu spestriť jedálny lístok. V našej štúdií sme sa konkrétne zamerali na pohánku a amarant. Fermentácia týchto pseudocerálií probiotikami môže priniesť nový trend vo vývoji funkčných potravín. Probiotiká majú vedecky dokázaný pozitívny vplyv na organizmus človeka. Sú to mono- alebo zmesné kultúry živých organizmov, ktoré po aplikácii prospešne ovplyvňujú hostiteľa zlepšením vlastností jeho vlastnej mikroflóry (Nevoral, 2005). Hlavnými kmeňmi s probiotickými charakteristikami sú *Lb. acidophilus*, *Bifidobacterium* spp., a *Lb. casei* (Shah, 2007).

Baktérie mliečneho kysnutia (BMK) musia spĺňať niekoľko kritérií, aby mohli byť použité ako probiotiká. Nesmú byť patogénne, ani toxické, musia byť geneticky stabilné a správne taxonomicky identifikované (Mercenier et al., 2003; Prado et al., 2008). Musia odolať tranzitu cez gastrointestinálny trakt, t. j. nízkej hodnote pH, prítomnosti kyseliny chlorovodíkovej, proteolytických enzýmov a najmä lyozýmu, ktorý spôsobuje lýzu niektorých baktérií. V zažívacom trakte musia ďalej znášať žľové kyseliny a nízke povrchové napätie. Významným

selekčným faktorom, ktorý probiotické baktérie musia prekonať, je peristaltika čriev a rýchlosť, ktorou prechádza potrava tráviacim traktom. Musia byť humánneho pôvodu. Probiotikum musí vykazovať prospešný efekt pre hostiteľa a stabilizovať črevnú mikroflóru. Probiotická baktéria musí byť schopná adherovať na intestinálne bunky a kolonizovať lumen traktu, kde súčasťou jej pozitívneho pôsobenia je produkcia antimikrobiálnych látok proti patogénom. V probiotickom produkte musí byť zachovaný veľký počet buniek a ich viabilita. To znamená, že v čase končiacej trvanlivosti alebo najneskoršej spotreby musia byť prítomné v koncentráciách viac ako 10^6 KTJ.ml⁻¹. Iba v tejto a vyššej koncentrácii majú v čreve požadovaný účinok (Görner a Valík, 2004; Parvez et al., 2006; Mattila-Sandholm et al., 2009).

Základný mechanizmus pôsobenia probiotických baktérií je spojený so znížením pH v súvislosti s tvorbou organických kyselín, s vlastnou činnosťou metabolitov alebo so syntézou antimikrobiálnych látok. Okrem toho, prichytenie probiotík na črevné epitelové bunky a následná dočasná kolonizácia čreva, má pravdepodobne zásadný význam pre ich priaznivý účinok na zdravie (Forestier et al., 2001; Buriti et al., 2004).

Cieľom práce bolo sledovať dynamiku rastu vybraných kmeňov/izolátov BMK v rastlinnom substráte počas 8 až 10 hodinovej fermentácie pri 37 °C a následne počas uchovávaní hotového produktu pri 6 °C.

MATERIÁL A METÓDY

Mikroorganizmy

V rámci práce sme sledovali rast nasledovných 8 kmeňov/izolátov BMK:

Lb. acidophilus 145 je komerčný kmeň od firmy Christian a Hansen a bol poskytnutý spoločnosťou Rajo a.s., Bratislava.

Lb. rhamnosus GG je zbierkový kmeň od fínskych mikrobiológov Owehanda a Salminen. Poskytla ho Dr. Lauková z Veterinárneho ústavu v Košiciach.

Lb. rhamnosus VT1 izolovaný z tatárskej omáčky je zaradený do Zbierky mikroorganizmov Ústavu technológie mlieka a tuků VŠCHT v Prahe. Poskytla ho Doc. M. Plocková, PhD.

Kmeň *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* 1753 je zbierkovým kmeňom z Masarykovej univerzity v Brne.

Lb. helveticus X A/2, *Lb. paracasei* VII B/10, *Lb. casei* VII B/6, *Lb. plantarum* III A/5 sú izoláty z rezortnej zbierky agropotravinárskych mikroorganizmov Výskumného ústavu potravinárskeho v Bratislave, Oddelenie mikrobiológie, molekulárnej biológie a biotechnológie.

Čisté kultúry laktobacilov boli uchovávané v MRS bujóne (Merck, Darmstadt, Nemecko) pri 5 ± 1 °C.

Štartovacia kultúra

Z 24 hodinovej čistej kultúry BMK sa získala štartovacia kultúra, ktorá sa scentrifugovala pri 6000 g 5 minút. Následne bola premytá sterilnou destilovanou vodou a opätovne scentrifugovaná pri rovnakých podmienkach. Po premytí sa zliál supernatant, pelet buniek sa rozsuspodoval v sterilnej destilovanej vode v pôvodnom objeme, pričom sme dodržiavali postup uvedený Angelovom et al. (2006).

Príprava cereálnej kaše

Cereálna kaša bola pripravovaná z celozrnnéj pohánkovej alebo amarantovej múky (Mlyn Zrno, Šišov), mlieka alebo vody a sacharózy (2 %). Prídavok pohánkovej múky bol 8 % v prípade mliečnej kaše a 12 % pri príprave vodných kaší a amarantovej 14 % (mliečna kaša) a 20 % (vodná kaša). Tieto prídavky sa ukázali ako najvhodnejšie z hľadiska stability kaší. Po navážení zložiek bola kaša na vodnej báze tepelne ošetrená pri 100 °C počas 20 minút. Pri príprave mliečnych kaší nasledovala po varení aj sterilizácia. Po ochladnutí boli kaše anaeróbne inkubované pri 37 °C počas 8 až 10 hodín.

Fermentácia a uskladnenie

Fermentácia sa začala po naočkovaní kaše 5 % štartovacej kultúry a realizovala sa po dobu 8 – 10 hodín anaeróbne pri 37 °C, pričom sa každé dve hodiny vyšetroval rast BMK. Okrem toho sa sledoval pokles pH každé štyri hodiny. Po skončení fermentačného procesu sa kaša uchovávala pri 6 °C a sledovalo sa prežívanie BMK a pokles pH počas troch týždňov.

Stanovenie celkového počtu BMK

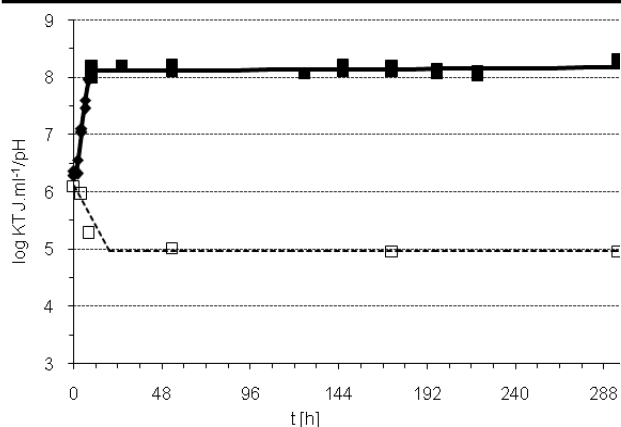
Predpokladané celkové počty laktobacilov sme stanovovali na MRS agare (Merck, Darmstadt, Nemecko) zriedovacou kultivačnou metódou podľa normy STN ISO 15214. Naočkované Petriho misky so stuhnutým MRS agarom sme kultivovali anaeróbne pri teplote 37 ± 1 °C po dobu 48 až 72 hodín.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

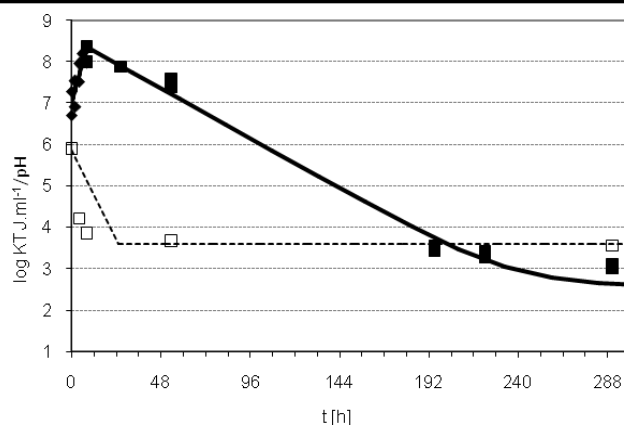
Dynamiku rastu jednotlivých laktobacilov sme sledovali v cereálnych kašiach pripravených z celozrnnéj pohánkovej alebo amarantovej múky, sacharózy a mlieka, resp. vody. Tieto múky sme zvolili hlavne kvôli tomu, že sú vhodné pre výživu celiakov vďaka vysokej nutričnej hodnote a predstavujú náhradu cereálnych múk, ktoré sú pri bezlepkovej diéte prísne zakázané (Sterr et al., 2009). Vodná pohánková kaša bola zvolená ako alternatíva pre ľudí trpiacich laktózovou intoleranciou, resp. alergiou na mliečne proteíny.

Pre ilustráciu je na obr. 1 a 2 znázornený priebeh rastových čiar kmeňa *Lb. acidophilus* 145 v pohánkovej mliečnej a vodnej kaši. V tabuľke 1 je uvedený prehľad rastových rýchlostí jednotlivých laktobacilov v závislosti od substrátu.

Vo všeobecnosti väčšina sledovaných kmeňov laktobacilov dosiahla vyššie koncentrácie pri raste v mliečnej kaši počas fermentácie pri 37 °C, kde nadobudli maximálne hodnoty 10^8 až 10^9 KTJ.ml⁻¹ v priebehu 8 až 10 h. Značne nižšie počty boli zaznamenané počas fermentácie a skladovania vodných kaší, čo naznačuje nižší rast a stabilitu probiotických kultúr v týchto produktoch. Vodná kaša pravdepodobne obsahovala oproti mliečnej menej špecifických nutričov potrebných pre rast laktobacilov. Laktobacily podľa Charalampopoulos et al. (2002) a Curryho a Crowa (2011) vyžadujú pre svoj rast fermentovateľné sacharidy, aminokyseliny, peptidy, masťné estery, soli, deriváty nukleových kyselín, a vitamíny, najmä B skupiny a minerálne látky, pričom tieto nároky sa líšia v závislosti od kmeňa.



Obr. 1 Dynamika rastu *Lb. acidophilus* 145 v pohánkovej mliečnej kaši počas fermentácie
 ◆ - pri 37 °C; a uskladnenia ■ - pri 6 °C; □ - zmena pH hodnoty



Obr. 2 Dynamika rastu *Lb. acidophilus* 145 v vodnej kaši počas fermentácie
 ◆ - pri 37 °C; a uskladnenia ■ - pri 6 °C; □ - zmena pH hodnoty

Tab. 1 Rastová rýchlosť [$\log \text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$] BMK v závislosti od substrátu

	<i>Lb. rhamnosus</i> GG	<i>Lb. rhamnosus</i> VTI	<i>Lb. acidophilus</i> 145	<i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 1754	<i>Lb. casei</i> VII B/6	<i>Lb. paracasei</i> VII B/10	<i>Lb. helveticus</i> X A/2	<i>Lb. plantarum</i> III A/5
pohánka + voda	0,126	0,268	0,16	0,463	0,154	0,235	0,212	0,347
pohánka + mlieko	0,912	0,731	0,272	0,264	0,219	0,219	0,515	0,226
amarant + voda	0,636	0,513	0,28	0,416	0,2601	0,213	0,485	0,311
amarant + mlieko	0,69	0,69	0,543	0,431	0,227	0,223		

Najvyššiu rastovú rýchlosť ($Gr = 0,912 \log \text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) počas fermentácie pohánkovej mliečnej kaše dosiahol *Lb. rhamnosus* GG. Valík et al. (2008) zaznamenali v UHT mlieku pri 35 °C rastovú rýchlosť kmeňa GG o 28 % nižšiu ako v pohánkovej kaši, čo naznačuje, že zloženie pohánky (obsah vitamínov alebo iných zložiek) podporuje rast laktobacila. Kmeň GG zároveň rástol o 86 % rýchlejšie v mliečnej kaši, v porovnaní s vodnou. Pri porovnaní rýchlostí rastu *Lb. rhamnosus* GG vo vodnom prostredí amarantového a pohánkového produktu bol zaznamenaný až 80 %-ný rozdiel, kde sa ako vhodnejší substrát ukázal amarant. Pravdepodobne preto, že amarant má vysoký obsah proteínov, aminokyselín a je bohatý na minerálne látky a vitamíny (Moroni et al., 2011). *Lb. acidophilus* 145 preukázal v tomto médiu približne dvojnásobne vyššie rastové rýchlosti v porovnaní s pohánkovým, v oboch fázach.

Z nameraných výsledkov vyplýva, že takmer vo všetkých produktoch sa po 3 týždňovom skladovaní pri 6 °C udržali počty laktobacilov nad hranicou ($10^6 \text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$) potrebnou pre požadovaný probiotický účinok v tráviacom trakte, dokonca u väčšiny kmeňov sa konečné hodnoty pohybovali v rozmedzí 10^7 až $10^8 \text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$. Jediný pokles pod spomínanú hraničnú koncentráciu sme zaznamenali pre probiotický produkt fermentovaný *Lb. acidophilus* 145 (obr. 2). V pohánkovom produkte sa koncentrácia laktobacila

v mliečnej fáze udržiavala na stabilnej hodnote $10^8 \text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$, ale vo vodnej došlo k výraznému odumieraniu rýchlosťou - $0,025 \log \text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, až na úroveň $4,0 \cdot 10^2 \text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$. Helland et al. (2004) sledovali rast *Lb. acidophilus* La5 v kukurično-ryžovom pudingu. Počas 12 h fermentácie vodného pudingu nezaznamenali významný nárast počtov a po ukončení 21 dní trvajúceho skladovania boli počty redukované takmer na nulovú koncentráciu. V rovnakom pudingu počty *Lb. acidophilus* 1748 klesli z koncentrácie $10^7 \text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$ na konci 12 h fermentácie, na 3 až 4 log poriadky po ukončení 21 dňového skladovania.

Amarantová kaša sa osvedčila ako stabilnejšie médium z hľadiska prežívania kmeňa *Lb. acidophilus* 145 počas uchovávaní pri 6 °C, kde nastal mierny nárast jeho počtov v mliečnej aj vodnej kaši, dokonca vo vodnej bol nárast vyšší a konečné počty dosiahli hodnotu tesne pod $10^8 \text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$ (obr. 1).

Vo všeobecnosti možno konštatovať, že koncentrácia laktobacilov v pohánkovom produkte sa počas 21 dňového skladovania udržiavala na stabilných hodnotách $10^8 \text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$ s rozdielom 1 log poriadok, v závislosti od použitého laktobacila. Výnimkou bol už spomínaný *Lb. acidophilus* 145 a *Lb. helveticus* X A/2, ktorého koncentrácia v mliečnej kaši klesla až o 1,5 log poriadku. Najvyššie počty na konci obdobia skladovania boli zaznamenané v pohánkovej mliečnej kaši fermentovanej *Lb. casei* VII B/6 a v amarantovom mliečnom produkte

fermentovanom *Lb. rhamnosus* GG a VT1 a tieto sa tesne priblížili k úrovni 10^9 KTJ.ml⁻¹.

Napriek tvrdeniu, že obsah mlieka v kaši viac vyhovuje spomínaným kmeňom, v prípade amarantovej kaše neboli rozdiely v rastových rýchlostiach laktobacilov medzi vodnou a mliečnou fázou produktov také výrazné. Zistili sme, že vodná pohánková kaša predstavovala najlepšie prostredie pre rast *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* 1754.

Vo väčšine pripravených pohánkových produktoch došlo k zmene pH o 1 až 2 jednotky, v závislosti od použitého laktobacila. V mliečnej kaši, kde pH pokleslo priemerne o 1 až 1,5 jednotky, sa konečná hodnota pohybovala v rozmedzí 4,5 až 5 a vo vodnom od 4 do 4,5. Amarantová kaša bola stabilnejšia z hľadiska zmeny pH. Pre prehľadnosť sú rýchlosti poklesu pH uvedené v tabuľke 2.

Tab. 2 Rýchlosť poklesu pH [h⁻¹]

	<i>Lb. rhamnosus</i> GG	<i>Lb. rhamnosus</i> VT1	<i>Lb. acidophilus</i> 145	<i>Lb. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 1754	<i>Lb. casei</i> VII B/6	<i>Lb. paracasei</i> VII B/10	<i>Lb. helveticus</i> X A/2	<i>Lb. plantarum</i> III A/5
pohánka + voda	-0,317	-0,234	-0,42	-0,329	-0,019	-0,025	-0,133	-0,026
pohánka + mlieko	-0,144	-0,114	-0,173	-0,075	-0,01	-0,001	-0,116	-0,003
amarant + voda	-0,243	-0,176	-0,006	-0,105	-0,012	-0,015	-0,024	-0,208
amarant + mlieko	-0,267	-0,19	-0,005	-0,002	-0,021	-0,172		

V pohánkovej vodnej kaši fermentovanej kmeňom *Lb. acidophilus* 145 bola zaznamenaná najvyššia zmena pH oproti počiatočnému stavu, až o 2,5 jednotky a po ukončení obdobia skladovania dosiahlo pH hodnotu 3,5. Tento fakt mohol prispieť k okamžitému nástupu fázy odumierania *Lb. acidophilus* 145 po ukončení 10 h fermentácie. Tento jav pozorovali aj Charalampopoulos et al. (2002) a Lönnner a Åkesson (1988). Charalampopoulos et al. (2002) sledovali rast *Lb. acidophilus* v sladovom médiu, jačmennom a pšeničnom extrakte bez akýchkoľvek prídavkov. Kvôli chemickému zloženiu bolo sladové médium vhodnejšie ako zvyšné dve cereálie, avšak jačmenný a pšeničný extrakt vykazovali značný protektívny efekt na viabilitu *Lb. acidophilus* v kyslom prostredí, keďže laktobacil prejavoval citlivosť na takéto prostredie. Zistili, že limitujúcou hodnotou pH pre rast *Lb. acidophilus* bolo pH 3,8 a laktobacil vstúpil po fermentácii priamo do fázy odumierania, pravdepodobne v dôsledku neschopnosti zniesť nízke pH média na konci exponenciálnej fázy. Lönnner a Åkesson (1988) vo svojej štúdií určili túto hodnotu na pH medzi 3,4 až 3,6, ktorá závisela od typu použitého cereálneho substrátu.

V amarantovej vodnej kaši, kde obsah *Lb. acidophilus* 145 počas obdobia skladovania dokonca narastal, bola konečná hodnota pH vplyvom fermentačnej činnosti kmeňa *Lb. acidophilus* 145 o 26 % vyššia ako v pohánke. Z toho vyplýva, že amarant má pravdepodobne svojim zložením lepšiu pufrovaciu schopnosť než pohánka.

Najnižšia zmena hodnoty pH počas uchovávanía bola pozorovaná v pohánkovej mliečnej kaši fermentovanej *Lb. paracasei* VII B/10, s konečnou hodnotou 5,5.

ZÁVER

Cieľom práce bolo sledovať dynamiku rastu baktérií mliečneho kysnutia v rastlinnom substráte, konkrétne v pohánkovej a amarantovej kaši s rozdielnym zložením, za účelom ich selekcie pre ďalšie práce zamerané na vývoj funkčnej potraviny pre celiatikov.

Väčšina testovaných laktobacilov vykazovala dobrý rast v cereálnom produkte, dokonca sa ich obsah počas 21 dní skladovania udržiaval nad hranicou 10^6 KTJ.ml⁻¹. K výraznému odumieraniu došlo len v pohánkovej vodnej kaši fermentovanej *Lb. acidophilus* 145, kde jeho obsah po ukončení skladovacieho procesu klesol o 4 log poriadky. Prídavok mlieka v kašovitých pseudocereálnych substrátoch mal pozitívny vplyv na rastové parametre, stabilitu počtov počas uchovávanía a na zmeny pH hodnôt, ktoré boli vyvážené lepšou pufrovacou schopnosťou takéhoto substrátu. Najvyššia rastová rýchlosť bola zaznamenaná v pohánkovom mliečnom produkte fermentovanom *Lb. rhamnosus* GG. Amarantová kaša tvorila svojim obsahom stabilnejšie médium, čo sa odrazilo na zmene pH a prežívaní laktobacilov.

LITERATÚRA

- ADAMS, J. Celiac Disease Statistics, 2007. [online] 2007 [cit. 16.11.2011]. Retrieved from the web:<<http://www.celiac.com/articles/1164/1/Celiac-Disease-Statistics/Page1.html>>.
- ANGELOV, A., GOTCHEVA, V., KUNCHEVA, R., HRISTOZOVA, T. 2006. Development of a new oat-based probiotic drink. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 112, 2006, p. 75-80.
- BAI, J., ZEBALLOS, E., FRIED, M., CORAZZA, G. R., SCHUPPAN, D., FARTHING, M. J. G., CATASSI, C., GRECO, L., COHEN, H., KRABSHUIS, J. H. 2007. Celiac disease. In *World Gastroenterology Organisation*, 2007, p. 1-18.

- BURITI, F. C. A., DA ROCHA, J. S., ASSIS, E. G., SAAD, S. M. I. 2004. Probiotic potential of Minas fresh cheese prepared with the addition of *Lactobacillus paracasei*. In *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, vol. 38, 2004, p. 173-180.
- CURRY, B., CROW, V. 2003. *Lactobacillus* spp. General characteristics. In: ROGINSKI, H., FUQUAY, J.W., FOX, P.W. Encyclopedia of Dairy Sciences. Academic Press, London, 3, 2003, p. 1479-1484. ISBN 0-12-227235-8.
- FORESTIER, CH., DE CHAMPS, CH., VATOUX, C., JOLY, B. 2001. Probiotic activities of *Lactobacillus casei rhamnosus*: in vitro adherence to intestinal cells and antimicrobial properties. In *Res. Microbial.*, vol. 152, 2001, p. 167-173.
- GÖRNER, F., VALÍK, E. 2004. *Aplikovaná mikrobiológia požívatin*. Malé centrum : Bratislava, 2004, 528 p. ISBN 80-967064-9-7.
- HELLAND, M. H., WICKLUND, T., NARVHUS, J. A. 2004. Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk- and water-based cereal puddings. In *International Dairy Journal*, vol. 14, 2004, p. 957-965.
- CHARALAMPOPOULOS, D., WANG, R., PANDIELLA S. S., WEBB, C. 2002. Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 79, 2002, p. 131-141.
- KOCKOVÁ, M., VALÍK, E. 2011. Potential of cereals and pseudocereals for lactic acid fermentations. In *Potravinárstvo*, vol. 5, 2011, no. 2, p. 27-40.
- KOHAJDOVÁ, Z., KAROVIČOVÁ, J., MAGALA, M. 2011. Utilisation of chickpea flour for crackers production. In *Acta Chimica Slovaca*, vol. 4, 2011, no. 2, p. 98-107.
- KRAJČIROVÁ, M. 2007. Celiakálna choroba v primárnej starostlivosti. In *Pediatr. prax*, vol. 5, 2007, p. 268-269.
- LONNER, C., AKESSON, P. K. 1988. Acidification properties of lactic acid bacteria in rye sour doughs. In *Food Microbiology*, vol. 5, 1988, p. 43-58.
- MATTILA-SANDHOLM, T., MATTO, J., SAARELA, M. 2009. Lactic acid bacteria with health claims- interactions and interference with gastrointestinal flora. In *International Dairy Journal*, vol. 9, 2009, p. 25-35.
- MERCENIER, A., PAVAN, S., POT, B. 2003. Probiotics as biotherapeutic agents: Present knowledge and future prospects. In *Current Pharmaceutical Desin.*, vol. 9, 2003, p. 175-191.
- MORONI, A. V., ARENDT, E. K., BELLO, F. D. 2011. Biodiversity of lactic acid bacteria and yeast in spontaneously-fermented buckweath and teff sourdoughs. In *Food Microbiology*, vol. 28, 2011, p. 497-502.
- NEVORAL, J., 2005. Prebiotika, probiotika a synbiotika. In *Pediatric pro praxi*, vol. 2, 2005, p. 59-65.
- PARVEZ, S., MALIK, K. A., AH KANG S., KIM, H. Y. 2006. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. In *Journal of Applied Microbiology*, vol. 100, 2006, p. 1171-1185.
- PRADO, F. C., PARADA, J. L., PANDEY, A., SOCCOL, C. R. 2008. Trends in non-dairy probiotic beverages. In *Food Research International*, vol. 41, 2008, p. 111-123.
- SHAH, N. P. 2007. Functional cultures and health benefits. In *International Dairy Journal*, vol. 17, 2007, p. 1262-1277.
- STERR, Y., WEISS, A., SCHMIDT, H. 2009. Evaluation of lactic acid bacteria for sourdough fermentation of amaranth. In *International Journal of Food Microbiology*, vol. 136, 2009, p. 75-82.
- STN ISO 15214, 2002. *Mikrobiológia potravín a krmív: Horizontálna metóda stanovenia mezofilných baktérií mliečného kysnutia. Metóda počítania kolónií kultivovaných pri 30 °C*. Bratislava: Slovenský ústav technickej normalizácie, 2002.
- TURČÁNI, M., MAASOVÁ, D. 2002. Sekundárna malabsorbcia. In: HULÍN, I. *Patofyziológia*, SAP, Bratislava, 2002, p. 950-952, ISBN 80-89104-05-3.
- VALÍK, E., MEDVEĐOVÁ, A., LIPTÁKOVÁ, D., 2008. Characterization of the growth of *Lactobacillus rhamnosus* GG in milk at suboptimal temperatures. In *Journal of Food and Nutrition Research*, vol. 47, 2008, no. 2, p. 60-67.

Acknowledgments:

This work was supported by grant VEGA no. 1/0094/10 and APVV-0590-10.

Contact address:

Ing. Jana Pelikánová, Institute of Biochemistry, Nutrition and Health Protection, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovakia, E-mail: xpelikanova@stuba.sk.

Ing. Denisa Liptáková, PhD., Institute of Biochemistry, Nutrition and Health Protection, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovakia, E-mail: denisa.laukova@stuba.sk.

prof. Ing. Ľubomír Valík, PhD., Institute of Biochemistry, Nutrition and Health Protection, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovakia, E-mail: lubomir.valik@stuba.sk.

Ing. Katarína Stančeková, Email: Institute of Biochemistry, Nutrition and Health Protection, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, E-mail: stancekova.katarina@gmail.com

