*Aktuální problematika mikrobiologie potravin 2026*
*19. – 20. 1. 2026*

# Vliv *Lactobacillus acidophilus* na růst a produkci mykotoxinů *Fusarium langsethiae* ve směsi pro přípravu raw chleba

Ivana Stará, Iveta Brožková, Veronika Bugáňová, Marek Pernica, Libor Červenka

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

# ÚVOD

- **Vitariánství (raw strava)**

  = způsob stravování, při kterém se konzumují převážně nebo výhradně nezpracované a tepelně neupravené potraviny (teplota nepřesahuje 42 °C) [1, 2, 3]

**Výhody:**

- ✓ méně zpracovaná strava
- ✓ neznehodnocování živin
- ✓ strava bohatá na vlákninu a antioxidanty
- ✓ enzymy
- ✓ nižší příjem kalorií, tuků

**Nevýhody:**

- × mikrobiální riziko
- × nízký příjem:
  - × bílkovin
  - × vitaminů (D, B12)
  - × minerálů (Fe, Ca, Se, Zn)



UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

# CÍLE PRÁCE

- Mikrobiologický rozbor surovin pro přípravu raw chleba
- Příprava směsi pro raw chleba
- Cílené inokulování *Lactobacillus acidophilus* a *Fusarium langsethiae*
- Mikrobiologický rozbor směsi před sušením a chleba po 5 hodinách sušení při 41,5 °C
- Analýza mykotoxinů
- Chemická analýza

# MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR SUROVIN



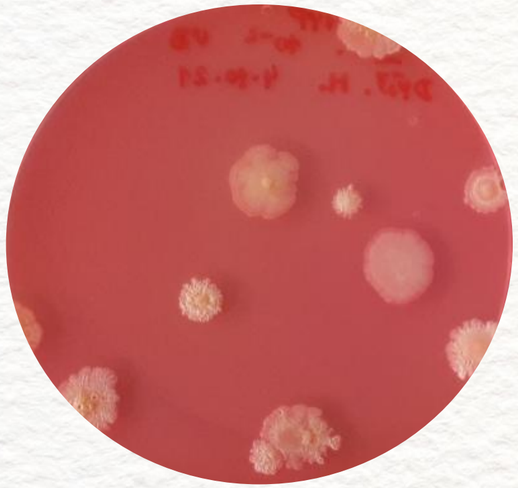
- Dýňová mouka, slunečnicová mouka, sezam, sušené droždí, chia semena, datle, *psyllium*, provensálské koření
- GKT, MYP, VČŽL, DRBC, DG18
  - GTK: agar s glukózou, tryptonem a kvasničným extraktem
  - MYP: žloutkový agar s polymyxinem B a fenolovou červení
  - VČŽL: agar s krystalovou violetí, neutrální červení, žlučovými solemi a laktózou
  - DRBC: agar s dichloranem, bengálskou červení a chloramfenikolem
  - DG18: dichloran glycerolový agar
- *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Mucor* spp., *Bacillus licheniformis*, kvasinky, *Cronobacter sakazakii*

# MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR SUROVIN



- **Stanovení CPM**
  - GTK, $10^{-3}$ a $10^{-4}$: 1 ml zalití a 0,1 ml roztěr L-hokejkou (30 °C, 24–48 hodin)
- **Stanovení koliformních mikroorganismů**
  - VČŽL, $10^{-1}$ a $10^{-2}$: 1 ml zalití (30 °C, 24–48 hodin)
- **Detekce *Bacillus cereus***
  - MYP, $10^{-1}$ a $10^{-2}$: 0,1 ml roztěr L-hokejkou (37 °C, 24–48 hodin)
- **Stanovení celkového počtu kvasinek a plísní u výrobbků s $a_w > 0,95$**
  - DRBC, $10^{-2}$ a $10^{-3}$: 0,1 ml roztěr L-hokejkou (25 °C, 5 dní)
- **Stanovení osmofilních kvasinek a xerofilních plísní**
  - DG18, $10^{-1}$ a $10^{-2}$: 0,1 ml roztěr L-hokejkou (25 °C, 30 dní)
- Biochemické testy, makroskopické a mikroskopické znaky, MALDI-TOF MS

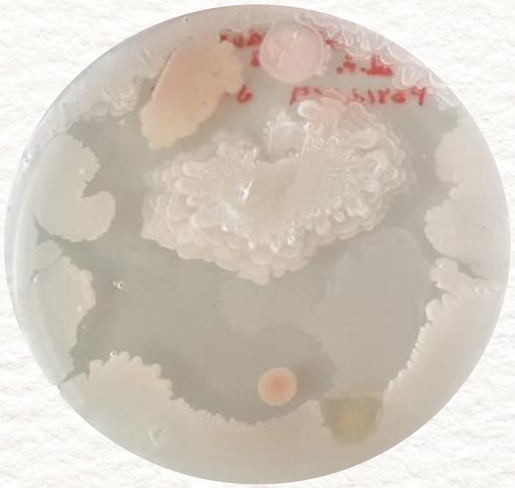
# VÝSLEDKY:
# MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR SUROVIN



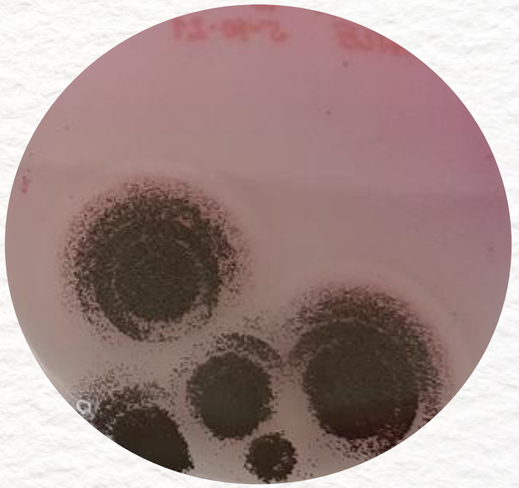
Dýňová mouka
*Bacillus licheniformis*
MYP



Dýňová mouka
Plísně
DG18



*Psyllium*
*Cronobacter sakazakii*
GTK

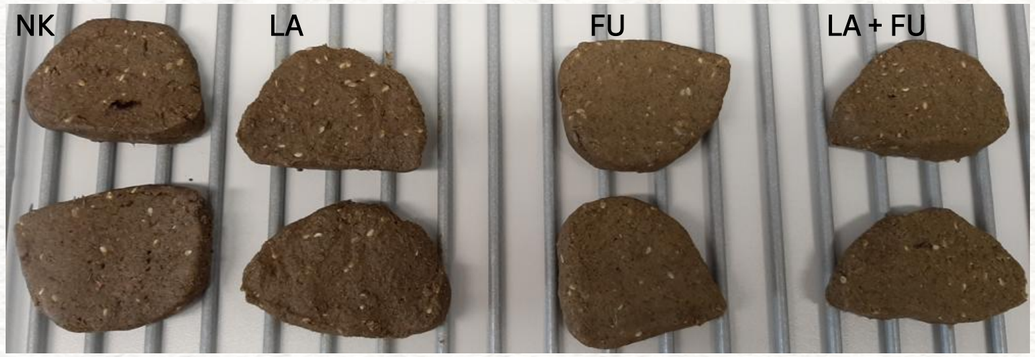


Datle
*Aspergillus brasiliensis*
DRBC

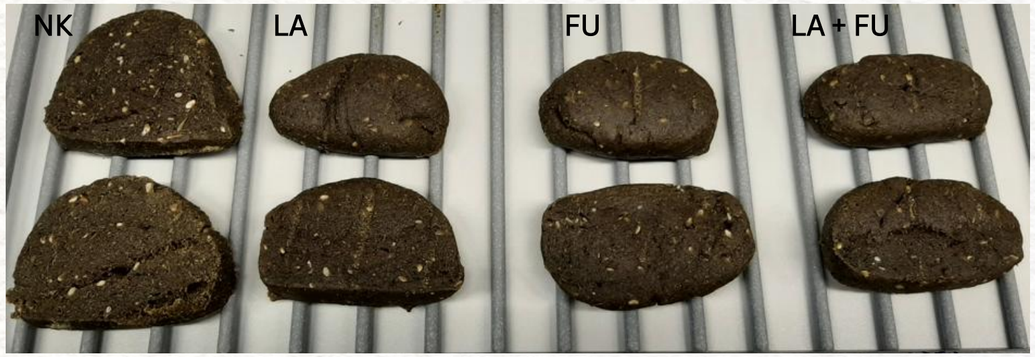
# PŘÍPRAVA SMĚSI PRO RAW CHLEBA

- Nabobtnání chia semen a psyllia → rozmixování spolu s datlemi → smíchání s ostatními surovinami
- Sušení: oválné plátky o tloušťce 0,5 mm, při 41,5 °C po dobu 5 hodin
- Ředění pro mikrobiologický rozbor: $10^{-1}$ a $10^{-2}$

1




2




Připravená směs před **(1)** a po **(2)** sušení: negativní kontrola **(NK)**; část směsi inokulovaná *Lactobacillus acidophilus* **(LA)**; část směsi inokulovaná *Fusarium langsethiae* **(FU)**; část směsi inokulovaná *Lactobacillus acidophilus* a *Fusarium langsethiae* **(LA + FU)**



UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

# VÝSLEDKY:
# MIKROBIOLOGICKÝ ROZBOR SMĚSI A RAW CHLEBA

| Typ chleba | | Počet mikroorganismů [CFU/g] na jednotlivých půdách | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | GTK | MYP | VČŽL | MRS | DRBC* |
| NK | Směs před sušením | $1{,}9 \times 10^3$ | $< 1{,}0 \times 10^2$ | $3{,}1 \times 10^2$ | $< 1{,}0 \times 10^2$ | $< 1{,}0 \times 10^2$ |
| | Raw chleba po sušení | $1{,}3 \times 10^3$ | $< 1{,}0 \times 10^2$ | $3{,}7 \times 10^2$ | $< 1{,}0 \times 10^2$ | $< 1{,}0 \times 10^2$ |
| LA | Směs před sušením | $1{,}2 \times 10^3$ | $< 1{,}0 \times 10^2$ | $4{,}1 \times 10^2$ | $6{,}0 \times 10^4$ | $< 1{,}0 \times 10^2$ |
| | Raw chleba po sušení | $1{,}7 \times 10^3$ | $< 1{,}0 \times 10^2$ | $2{,}9 \times 10^2$ | $6{,}3 \times 10^4$ | $< 1{,}0 \times 10^2$ |
| FU | Směs před sušením | $1{,}3 \times 10^3$ | $< 1{,}0 \times 10^2$ | $3{,}8 \times 10^2$ | $< 1{,}0 \times 10^2$ | $7{,}8 \times 10^5$ |
| | Raw chleba po sušení | $2{,}0 \times 10^3$ | $< 1{,}0 \times 10^2$ | $4{,}2 \times 10^2$ | $< 1{,}0 \times 10^2$ | $3{,}0 \times 10^7$ |
| LA + FU | Směs před sušením | $1{,}4 \times 10^3$ | $< 1{,}0 \times 10^2$ | $4{,}1 \times 10^2$ | $6{,}3 \times 10^4$ | $7{,}8 \times 10^5$ |
| | Raw chleba po sušení | $1{,}1 \times 10^3$ | $< 1{,}0 \times 10^2$ | $4{,}0 \times 10^2$ | $6{,}5 \times 10^4$ | $2{,}8 \times 10^7$ |

***** Počty plísní na půdě DRBC stanovené v těstě a usušeném raw chlebu po 7 dnech při pokojové teplotě; Negativní kontrola **(NK)**; část inokulovaná *Lactobacillus acidophilus* **(LA)**; část inokulovaná *Fusarium langsethiae* **(FU)**; část inokulovaná *Lactobacillus acidophilus* a *Fusarium langsethiae* **(LA + FU)**



UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

# PŘÍPRAVA VZORKU PRO LC-MS ANALÝZU



- Vzorek o hmotnosti 25,0 ± 0,1 g + 100 ml směsi acetonitrilu a vody
- Třepání suspenze 50 min
- 4000 ot./min po dobu 15 minut
- **Analýza toxinů:**
  - deoxynivalenol (DON)
  - diacetoxyskripenol (DAS)
  - neosolaniol (NEO)
  - HT-2 a T-2
- Waters Acquity UPLC ve spojení s hmotnostním spektrometrem XEVO TQ-S micro (triple quadrupole)

# VÝSLEDKY:
# ANALÝZA MYKOTOXINŮ VE SMĚSI PŘED SUŠENÍM

| | | Obsah mykotoxinů [µg/kg] v jednotlivých experimentech | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Vzorek** | | **DAS** | **NEO** | **HT-2** | **T-2** |
| **Směs 1 před sušením** | **FU** | < LOD | 5,2 | 1,4 | 2,3 |
| | **LA + FU** | < LOD | 3,7 | 1,1 | 1,3 |
| **Směs 2 před sušením** | **FU** | < LOD | < LOD | 1,4 | 0,2 |
| | **LA + FU** | < LOD | < LOD | < LOD | < LOD |
| **Směs 3 před sušením** | **FU** | < 0,17 | 35,6 | 17,1 | 5,7 |
| | **LA + FU** | < 0,08 | 19,1 | 8,4 | 2,4 |

Část směsi inokulovaná *Lactobacillus acidophilus* **(LA)**; část směsi inokulovaná *Fusarium langsethiae* **(FU)**; část směsi inokulovaná *Lactobacillus acidophilus* a *Fusarium langsethiae* **(LA + FU)**; diacetoxyscripenol **(DAS)**; neosolaniol **(NEO)**; limit detekce **(LOD); DON < LOD** ve všech vzorcích



UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

# VÝSLEDKY:
# ANALÝZA MYKOTOXINŮ V RAW CHLEBU PO SUŠENÍ

| Vzorek | | Obsah mykotoxinů [µg/kg] v jednotlivých experimentech | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | DAS | NEO | HT-2 | T-2 |
| **Raw chleba 1 po sušení** | **FU** | 0,06 | 12,7 | 12,5 | 3,2 |
| | **LA + FU** | 0,03 | 9,9 | 9,7 | 3,1 |
| **Raw chleba 2 po sušení** | **FU** | < LOD | 3,0 | 1,2 | 1,0 |
| | **LA + FU** | < LOD | 2,5 | 0,7 | 0,9 |
| **Raw chleba 3 po sušení** | **FU** | < LOD | 1,0 | 11,3 | 30,3 |
| | **LA + FU** | < 0,05 | 0,5 | 1,8 | 4,2 |

Část směsi inokulovaná *Lactobacillus acidophilus* **(LA)**; část směsi inokulovaná *Fusarium langsethiae* **(FU)**; část směsi inokulovaná *Lactobacillus acidophilus* a *Fusarium langsethiae* **(LA + FU)**; diacetoxyscripenol **(DAS)**; neosolaniol **(NEO)**; limit detekce **(LOD); DON < LOD** ve všech vzorcích



UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

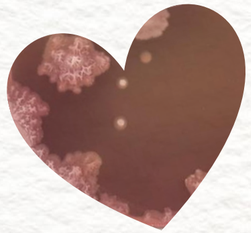
# CHEMICKÁ ANALÝZA



- **Stanovení aktivity vody:** AquaLab TDL
  - sušením došlo ke ↓ aktivity vody, avšak pouze o 0,02 – 0,03
  - aktivita vody vhodná pro růst MO
- **Stanovení obsahu sušiny:** Kern DLB 160-3A
  - vzorky těsta ↓ obsah sušiny než chléb po sušení
  - nebyl zjištěn významný rozdíl mezi různými typy chleba
- **Stanovení celkového obsahu fenolických látek:**
  - spektrofotometricky při λ = 765 nm
  - ↑ hodnoty u chleba po sušení, MO mohou mít vliv na celkový obsah fenolických látek
- **Stanovení antioxidační kapacity:**
  - spektrofotometricky při λ = 517 nm
  - ↑ hodnoty u chleba po sušení, MO mohou mít vliv na antioxidační kapacitu

# ZÁVĚR

- Sušení při 41,5 °C není dostatečné pro redukci množství mikroorganismů
- Přítomnost *Lactobacillus acidophilus* neinhibuje růst *Fusarium langsethiae*, ale snižuje koncentraci mykotoxinů (T-2, HT-2, diacetoxyscirpenol, neosolaniol)
- Chléb inokulovaný mikroorganismy má po sušení vyšší hodnoty antioxidační kapacity i celkového obsahu fenolických látek oproti těstu i kontrolnímu vzorku



# DĚKUJI ZA POZORNOST!

Ivana Stará

ivana.stara@student.upce.cz

*Tato práce byla podpořena projektem Univerzity Pardubice SGS_2025_004.*

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

# LITERATURA


1. AWUCHI, C. G., ECHETA, C. K., IGWE, V. S. Diabetes and the nutrition and diets for its prevention and treatment: A systematic review and dietetic perspective. *Health Sciences Research*. 2020, **6**(1), s. 5-19. ISSN 2375379X. Dostupné z: www.aascit.org/journal/archive2?journalId=908&paperId=7753.

2. FERRAROVÁ, E., FALTUSOVÁ, K., GOEROJOVÁ, K., KAŠPAROVÁ, M., MATĚJÍČKOVÁ, P., MORAVCOVÁ, A., POULOVÁ, V., VLČKOVÁ, E. Krize kulturních vzorců a nové trendy ve stravování z hlediska Antropologie jídla. *Anthropologia Integra*. 2019, **10**(2), s. 7-16. ISSN 18046665. DOI: 10.5817/AI2019-2-7.

3. RUDLOFF, S., BÜHRER, Ch., JOCHUM, F., Kauth, T., Kersting, M., Körner, A., Koletzko, B., Mihatsch, W., Prell, C., Reinehr, T., Zimmer, K.-P. Vegetarian diets in childhood and adolescence. *Mol. Cell. Pediat*. 2019, **6**. ISSN 21947791. DOI:10.1186/s40348-019-0091-z.