



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Polysaccharide und Oligosaccharide als
Kohlenstoffquelle für Milchsäurebakterien “

verfasst von

Anja Klikovits

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Pharmazie (Mag.pharm.)

Wien, 2013

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 449

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Diplomstudium Pharmazie UniStG

Betreut von:

O. Univ.-Prof. Mag. Dr. Helmut Viernstein

Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei den Menschen bedanken, die mich während meiner Diplomarbeitszeit unterstützt haben.

Bedanken möchte ich mich bei O. Univ. Prof. Mag. Dr. Helmut Viernstein für die Bereitstellung des interessanten Diplomarbeitsthemas und die rasche Übergabe meines Diplomarbeitsplatzes.

Weiters gilt mein Dank Univ. Prof. Dr. Frank Michael Unger, Mag. Andrea Cavarkapa, Univ. Prof. Dipl. Ing. Dr.nat.techn. Werner Praznik und Dr. Renate Löppert für die Bereitstellung der Oligo- und Polysaccharid – Proben und für ihre Unterstützung während der praktischen Arbeit.

Ein besonderer Dank gebührt MMag. DI. Dr. Monika Müller, die mich während meiner gesamten Diplomarbeitszeit unterstützt hat. Auch möchte ich meinen Dank für ihren wertvollen Rat bei so manchem unerwarteten Problem, das während der praktischen Arbeit auftauchte, und ihre wertvollen Hinweise zur Problemlösung bekunden.

Abschließend möchte ich meinen Eltern dafür danken, dass sie mir dieses Studium finanziell ermöglicht haben sowie mit aufmunternden Worten Mut zugesprochen und mich so bestärkt haben, nicht aufzugeben.

DANKE.

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	1
Inhaltsverzeichnis	2
Abriss	4
Abstract	5
1. Einleitung	6
1.1. Functional food	6
1.1.1. Probiotika	7
1.1.2. Präbiotika	7
1.1.3. Synbiotika	8
1.2. Probiotische Bakterien	8
1.2.1. <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	9
1.2.2. <i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i>	9
1.2.3. <i>Lactobacillus casei</i>	10
1.2.4. <i>Lactobacillus paracasei</i>	11
1.2.5. <i>Lactobacillus reuteri</i>	11
1.2.6. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	12
1.2.7. <i>Bifidobacterium animalis</i> ssp. <i>lactis</i>	13
2. Material und Methoden	14
2.1. Herstellen eines MRS – Mediums	14
2.1.1. Rezept MRS – Bouillon ohne Glucose (MRS- – Medium)	14
2.1.2. MRS – Bouillon mit Glucose (MRS+ – Medium)	15
2.2. Herstellen der Zuckerlösungen	15
2.3. Verwendete Bakterienkulturen	19
2.4. Anzucht der Bakterienkulturen	20
2.5. Bioscreen C – Messungen und Tecan – Messungen	21
3. Resultate	22
3.1. <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	23
3.2. <i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i>	27
3.3. <i>Lactobacillus casei</i>	31
3.4. <i>Lactobacillus paracasei</i>	35
3.5. <i>Lactobacillus reuteri</i>	39

3.6. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	43
3.7. <i>Bifidobacterium animalis ssp. lactis</i>	47
4. Diskussion	51
5. Zusammenfassung	54
Literaturverzeichnis	55
Abbildungsverzeichnis	63
Lebenslauf	65

Abriss

Der positive Einfluss von Probiotika, Präbiotika und Synbiotika auf den menschlichen Körper und das Immunsystem ist schon lange bekannt. In dieser Diplomarbeit wurde die spezielle Wirkung ausgewählter präbiotischer Oligo- und Polysaccharide, die zuvor aus Pflanzen wie *Hyptis suaveolens*, *Ocimum basilicum* und anderen Arten isoliert wurden, auf 7 Probiotikastämme getestet. Dabei wurden bekannte Bakterienstämme wie *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus acidophilus* und *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* verwendet, da sich diese bereits als probiotische Zusätze in auf dem Markt befindlichen Präparaten bewährt haben.

Die Zunahme des Wachstums wurde mittels Trübungsmessung bestimmt. Dabei konnten zahlreiche Erfolge in der Beeinflussung der Zellvermehrung vermerkt werden, die ermutigen, weitere und ausgedehntere Untersuchungen zu diesen speziellen Kohlenstoffquellen und ihren Einfluss auf bestimmte Bakterienkulturen durchzuführen.

Abstract

The positive influence of probiotics, prebiotics and synbiotics on the human body and immun system has been well known for a long time. In this diploma thesis the particular impact of selected probiotic oligo- and polysaccharids, which were isolated from plants such as *Hyptis suaveolens*, *Ocimum basilicum* and others, were tested on 7 probiotic strains. Well known bacteria strains like *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* were used, because they have already been proven as probiotic additions in many products on the market so far. The growth of the bacteria was determined, indicated by the rise of turbidity. Thereby many of the tested prebiotics showed a successful influence on cell growth. These results encourage further and more intensive studies on these special carbon sources and their influence on the growth of certain bacteria strains.

1. Einleitung

Im Zuge dieser Diplomarbeit wurde das Wachstum verschiedener Bakterienstämme wie *Lactobacillus* und *Bifidobacterium* unter verschiedensten Konzentrationen von Zuckerlösungen aus Polysacchariden und Oligosacchariden untersucht.

Ziel war es, den Einfluss unterschiedlicher Kohlenhydratquellen auf das Wachstum der Kulturen zu erforschen und zu dokumentieren.

1.1. Functional food

„Bei Functional Food handelt es sich um Lebensmittel oder um Bestandteile eines Lebensmittels, denen über die Zufuhr von Nährstoffen hinaus ein zusätzlicher Nutzen zugesprochen wird, der in der Steigerung des Wohlbefindens und dem Erhalt der Gesundheit liegt. Dabei spielen die Reduktion eines Krankheitsrisikos und die Prävention von Krankheiten eine besondere Rolle.“ [1]

Functional food ist ein Begriff, der zwar erst seit ungefähr 2 Jahrzehnten in Europa und der westlichen Welt bekannt ist, jedoch existierten dessen Vorgänger bereits Ende des 19. Jahrhunderts. Schon damals versetzte man Lebensmittel mit Zusatzstoffen, um dem menschlichen und tierischen Organismus zusätzlich Substanzen mit wertvollem Gesundheitsnutzen zukommen zu lassen. [1] [2] [3]

Der Ursprung des Functional food liegt jedoch in Japan, wo genaueste Definitionen und Vorschriften sowie ein eigenes Gesundheitslabel für „Lebensmittel mit spezifischem Gesundheitsnutzen“ existieren. [1] [2]

In Österreich gab es lange Zeit keine eigenen Gesetze und Vorschriften für „funktionelle Lebensmittel“. Sie fielen in einzelne nationale Regelungen wie das *Allgemeine Lebensmittelrecht* bzw. die *Novel food Verordnung* vom Mai 1997. [1] [4]

Im Jahr 2003 kam es zu einem ersten Vorschlag einer harmonisierenden Verordnung der EU Kommission zu diesem Thema, die im Juli 2007 in Kraft getreten ist. [1]

Auch wenn der Begriff des Functional food oder der „funktionellen Lebensmittel“ nicht jedem geläufig ist, finden sich doch viele Produkte in den Supermarktregalen, die als solche einzuordnen sind. Die uns bekanntesten Functional food Produkte sind

Margarine mit Omega-3-Fettsäuren, Fruchtsäfte mit Vitamin A-C-E-Zusätzen und Milchprodukte mit speziellen Bakterienkulturen wie *Lactobacillus* oder *Bifidobacterium*. [1] [3] [6]

1.1.1. Probiotika

Der Ausdruck *Probiotika* kommt aus dem Griechischen, *pro bios* und bedeutet „für das Leben“. [5] [6]

Probiotika sind Stämme von überlebensfähigen, nicht-pathogenen Mikroorganismen, die in festen Zubereitungen (im medizinischen Bereich zum Beispiel in Kapselform oder, im Falle der Lebensmittelindustrie, beispielsweise in Joghurt) aufgenommen werden können und einen positiven Einfluss auf den Körper haben. [5] [6] [9] Zu den bekanntesten Probiotika zählen die Milchsäurebakterien mit den Vertretern der Gattungen *Lactobacillus* und *Bifidobacterium*, die in geringen Mengen auch im menschlichen und tierischen Darm vorkommen. Weiters werden *Enterokokken*- sowie Hefestämme als Probiotika im medizinischen Bereich eingesetzt. [6] [9] [10]

Sie unterstützen die Darmtätigkeit und fördern die Entwicklung und Gesunderhaltung der Darmflora des Menschen, können kardiovaskulären Erkrankungen verringern, Hautkrankheiten verbessern, das Allergierisiko bei Säuglingen und Kleinkindern verringern, Karies vorbeugen, und das Immunsystem anregen. [5] [11] [30] [33]

Die besonderen Eigenschaften mancher *Probiotika* sind dabei nicht Merkmale einer Spezies, sondern eines bestimmten Stammes. [9] [10]

1.1.2. Präbiotika

Präbiotika stellen die Nahrung der Darmbakterien dar. Sie sichern aber nicht nur das Wachstum und Überleben der Probiotika, die die unverdaulichen Kohlenhydrate als Energiequelle nutzen, sondern wirken auch positiv auf den Darm und das Immunsystem selbst. [5]

Präbiotika tragen zur Senkung des Cholesterinspiegels bei und leisten einen wichtigen Beitrag bei der Osteoporosetherapie, indem sie die Calciumaufnahme in den Knochen erhöhen sowie den Abbau des Knochens durch Hemmung der Osteoklasten

verhindern. [5] [7] Außerdem beeinflussen sie den Darm positiv bei Obstipation und Erkrankungen wie Durchfall oder Reizdarmsyndrom. Auch wird durch ihr Zutun vermehrt Calcium aus dem Darm rückresorbiert und so dem Körper erneut zur Verfügung gestellt. [5] [7] Ferner wirken Präbiotika prophylaktisch gegen Atemwegserkrankungen und Infektionen des Respirationstraktes und können die Häufigkeit des Auftretens von Allergien bei Säuglingen und Kleinkindern verringern. [7] [8]

Präbiotika sind meist Polysaccharide wie Inulin, oder Oligosaccharide wie Oligofructose, Fructo- und Galactooligosaccharide, die vom menschlichen Körper selbst nicht verdaut werden können. Unverdauliche Kohlenhydrate wie Inulin kommen in natürlicher Form in Muttermilch sowie Cichorie, Topinambur, Schwarzwurzeln und Artischocken vor, können aber auch Backwaren wie Schwarzbrot zugesetzt werden. [6] [10]

Speziell an die jeweilige Bakterienart angepasst, können die Kohlenhydratanteile der Nahrung zugegeben werden und so das Wachstum der Probiotika verbessern. [6] [9]

1.1.3. Synbiotika

Synbiotika enthalten sowohl Probiotika als auch Präbiotika. [6] [12]

1.2. Probiotische Bakterien

Probiotische Bakterien wie *Lactobacillus* oder *Bifidobacterium* werden z.B. in der Lebensmittelindustrie Milchprodukten zugesetzt, sind aber auch in Pflanzen, im menschlichen und tierischen Darm sowie auf Schleimhäuten zu finden. [9] [10]

Zur Familie der *Milchsäurebakterien* (Lactobacillaceae) gehören grampositive, sporenlose und fakultativ anaerobe kurze oder lange Stäbchen, die je nach Art unterschiedliche Merkmale aufweist. Sie haben die Energiegewinnung durch die Vergärung unverdaulicher Kohlenhydrate zu Milchsäure gemein. [13] [14] Die produzierte Milchsäure wirkt auf die *Lactobacillen* selbst nicht schädlich, jedoch kann sie andere Mikroorganismen am Wachstum hindern oder sogar abtöten. Das geschieht, indem das Milieu in der Umgebung der Milchsäure-produzierenden Bakterien saurer wird und die Zellmembranen schädlicher Mikroorganismen angegriffen werden. Somit

wird die Ansiedlung von Pathogenen auf menschlichen und tierischen Schleimhäuten gehemmt. [13] [14] [21]

1.2.1. *Lactobacillus rhamnosus* GG

Ursprünglich als Unterart von *Lactobacillus casei* angesehen, fand man später durch genauere Forschung am Genom des Bakteriums heraus, dass *Lactobacillus rhamnosus* eine eigene Spezies darstellt. [15] [17] Nicht jeder Vertreter dieser Bakterienspezies wirkt positiv auf das Immunsystem. Einige Unterarten haben pathogene Eigenschaften und werden für Durchfälle oder sogar für Endokarditis verantwortlich gemacht. [16] [18] [21]

Lactobacillus rhamnosus GG (LGG) ist eine Unterart des *Lactobacillus rhamnosus* Stammes und ist gegen Magensäure, Gallensäure und niedrige pH-Werte resistent, weshalb es gerne in Kombination mit anderen Milchsäurebakterien als Probiotikum in der Lebensmittelindustrie eingesetzt wird. [15] [21] [24]

Den Anhang „GG“ trägt es wegen den beiden Forschern, Dr.Sherwood Gorbach und Dr.Barry Goldin, die *Lactobacillus rhamnosus* GG 1985 erstmals isoliert haben. [21]

Medizinisch betrachtet soll LGG bei Durchfallerkrankungen helfen und allergischen Hautreaktionen bei Kindern und Kleinkindern sowie Atemwegserkrankungen vorbeugen. [18] [19] [20] [21] Auch eine kariesprophylaktische Wirkung wurde für *Lactobacillus rhamnosus* GG erforscht und nachgewiesen. [22] In Untersuchungen mit *Helicobacter pylori* infizierten Probanden wurde eine Verbesserung der gastrointestinalen Nebenwirkungen der Tripeltherapie nachgewiesen, wenn die Patienten zeitgleich mit *Lactobacillus rhamnosus* GG – Präparaten substituiert wurden. [23]

1.2.2. *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*

Lactobacillus paracasei kommt auf den Schleimhäuten der Mundhöhle und des Darmes vor und unterstützt von dort aus das Immunsystem. [9] [10] [25] [27]

Lactobacillus paracasei ssp.*paracasei* ist eine ebenfalls im Darm ansässige Unterart des oben genannten Stammes. [15] Der Vorgang der Milchsäureproduktion passiert bei

Lactobacillus paracasei ssp. paracasei sehr langsam, weshalb diese Bakterienkultur in der Lebensmittelindustrie zur Käseherstellung verwendet wird. Aufgrund seiner guten Überlebensrate wird *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* auch Milchprodukten zugesetzt. [15] [25] [26]

Sein positiver Einfluss bei Durchfallerkrankungen, besonders solche, die durch *Escherichia coli* bedingt sind, wurde in mehreren Studien untersucht und bewiesen. [35] Weiters senkt *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* das Risiko von *Helicobacter pylori* verursachten Infektionen des Magens und trägt zur Besserung von Hauterkrankungen bei Kindern bei. [26] Personen, die Diät halten und gleichzeitig Probiotika wie *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* zu sich nehmen, konnten durch eine verbesserte Darmfunktion ihr Gewicht sowie ihren Körperfettgehalt senken. [36] [37]

1.2.3. *Lactobacillus casei* (Immunitas)

Lactobacillus casei ist recht unempfindlich gegenüber Magenäure und niedrigen pH – Werten und kann sich auch bei großen Temperaturschwankungen noch gut vermehren. [15] Deshalb wird es in der Lebensmittelindustrie Joghurt und Joghurtdrinks, wie z.B. Actimel® beigesetzt. In Milchprodukten wird *Lactobacillus casei* weniger in Reinkultur als in Kombination mit anderen *Lactobacillus* – Stämmen in großen Mengen zugesetzt. [15] [18] [38] Früher wurde *Lactobacillus casei* als große Gruppe angesehen, der mehrere Subspezies angehörten. Heute weiß man, dass der *Lactobacillus casei* – Stamm aus 3 verschiedenen Bakterienarten besteht, nämlich *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* mit seinen zahlreichen Subspezies, und *Lactobacillus rhamnosus*. [15] [27] [28]

Wie die meisten Milchsäurebakterien hat die Bakterienart *Lactobacillus casei* erwiesenermaßen eine positive Wirkung auf Darm und Verdauungssystem. Der Grund für den vorteilhaften Einfluss auf die Darmflora bei Durchfallerkrankungen, aber auch bei Verstopfung, liegt höchstwahrscheinlich an der fakultativ heterofermentativen Milchsäureproduktion des Bakteriums. [15] [26] [41]

Einige Studien deuten darauf hin, dass die Progredienz von Darmtumoren durch regelmäßige Zufuhr von *Lactobacillus casei* verlangsamt wird. [40] Man hat auch festgestellt, dass, wenn der Bakterienstamm in regelmäßigen Zeitabständen dem Körper zugeführt wird, es die Progression von Diabetes mellitus hinauszögern bzw. das

Risiko für das Ausbrechen der Erkrankung vermindern kann. [39] Außerdem soll *Lactobacillus casei* die Symptome *Helicobacter pylori* bedingter Infektionen lindern, indem es durch Sekretion bestimmter Substanzen die Beweglichkeit jener Pathogene in der Magensäure einschränkt. [29]

1.2.4. *Lactobacillus paracasei* (Shirota)

Lactobacillus paracasei ist eine der 3 Arten des *Lactobacillus casei*. [15] Es hat nicht nur wie die anderen *Lactobacillus* – Stämme positive Wirkungen auf den Darm bei Durchfallerkrankungen, sondern soll laut einigen Studien ebenso das Risiko des Auftretens einer allergischen Rhinitis verringern. [27] [28] [42] [43] Weiters soll dieser Stamm dazu beitragen, Adipositas und Übergewicht zu verringern, indem es die Lipolysetätigkeit im Körper erhöht und somit das Körpergewicht vermindert. [15] [27] [28]

Auch die Lebensmittelindustrie hat *Lactobacillus paracasei* für sich entdeckt und setzt die fakultativ heterofermentativen *Lactobacillen* allseits bekannten Joghurt drinks wie Shirota® und Yakult® zu. [15] Außerdem soll es laut einigen Untersuchungen eine inhibierende Wirkung auf das Wachstum anderer Mikroorganismen in Milchprodukten haben. [31]

Genau wie *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* wird *Lactobacillus paracasei* zur Kariesprophylaxe in Zahnpasten eingesetzt. Es verklumpt mit dem in der Mundhöhle vorkommenden, kariesauslösenden *Streptococcus mutans* zu Aggregaten, die anschließend mit Wasser ausgespült werden. Dadurch hat der *Streptococcus* Stamm keine Möglichkeit mehr sich an den Zahnschmelz zu heften und ihn zu schädigen. [30] [32] [33] [34]

1.2.5. *Lactobacillus reuteri*

Lactobacillus reuteri kommt in kleinen Mengen in der Muttermilch vor und nimmt dadurch Einfluss auf die Darmgesundheit und die Stärkung des Immunsystems von Säuglingen. [48] [49] Auch bei Erwachsenen verbessert *Lactobacillus reuteri* das Allgemeinbefinden und verringert das Auftreten von Allergien. [44] [49] Des Weiteren

soll *Lactobacillus reuteri* das Fortschreiten von *Helicobacter pylori* Infektionen vermindern. [50] Schon länger ist der positive Einfluss von *Lactobacillus reuteri* im Bereich der Mundhygiene bekannt. Bei Patienten mit Gingivitis wurde durch den Einsatz dieses Bakterienstammes nicht nur die Häufigkeit von Zahnfleischentzündungen sondern auch das Auftreten von Zahnplaque verringert. [45]

In anderen Studien untersuchte man Patientinnen, bei denen eine bakterielle Vaginosis diagnostiziert wurde und denen Präparate, die das Probiotikum *Lactobacillus reuteri* enthielten, verabreicht wurden. Jede dieser Untersuchungen kam zu dem Ergebnis, dass *Lactobacillus reuteri* die Symptome einer vaginalen Infektion verbessern und aufzuhalten vermag. [46] [47]

1.2.6. *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillen der Art *Lactobacillus acidophilus* kommen auf der menschlichen Mund- und Darmschleimhaut sowie im Vaginal- und Urogenitaltrakt vor. [14] [15]

Durch klinische Studien wurde bewiesen, dass die Symptome von Antibiotika – und Chemotherapie – bedingten Durchfällen gelindert werden können, indem *Lactobacillus acidophilus* den Wiederaufbau der geschädigten Schleimhäute unterstützt. [51] Des Weiteren soll die Bakterienkultur einen bedeutenden Einfluss auf die Senkung des Cholesterinspiegels und somit in weiterer Folge, auf die Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen haben. [52] Außerdem zeigte dieser Stamm auch eine teilweise erfolgreiche Wirkung bei Patienten mit chronischen Erschöpfungszuständen. [53] Weiters kann *Lactobacillus acidophilus*, sofern es in Kombination mit verschiedenen Antibiotika verabreicht wird, den Verlauf einer, durch *Clostridium difficile* verursachten Enterokolitis mindern, und beim Heilungsprozess helfen. [54] In sowohl lebender als auch abgetöteter Form vermag *Lactobacillus acidophilus* auf eine Influenza – Erkrankung prophylaktisch als auch lindernd zu wirken, indem das Milchsäurebakterium die Aktivität des Immunsystems steigert. [55]

Lactobacillus acidophilus spielt auch in der Lebensmittelindustrie eine wichtige Rolle. Einerseits wird es als Probiotikum in Joghurts und Joghurt drinks zugesetzt, andererseits verwendet man es aufgrund seiner „milden Säuerung“ zur Herstellung und Haltbarmachung von Milchprodukten und Sauerkraut. [15]

1.2.7. *Bifidobacterium animalis ssp. lactis*

Bifidobacterium animalis ist ein anaerobes, heterofermentatives Bakterium, das bereits im Darm von Säuglingen, die mit Muttermilch gestillt werden, in großer Menge vorkommt. [11] [13] [15] [56] So kann es Mutter und Kind gleichsam vor Erkrankungen durch z.B. *Escherichia coli* oder *Candida albicans* schützen, aber auch Verstopfungen vorbeugen. [15] [57]

Bifidobacterium animalis ssp. lactis, ebenfalls unter der Abkürzung *BB 12* bekannt, ist eine Unterart der beiden Subspezies des *Bifidobacterium animalis* Stammes. [15] Jedoch ist *Bifidobacterium animalis ssp. lactis*, anders als die *Lactobacillen*, nicht gegen Säure resistent und wird dadurch in der Lebensmittelindustrie meist nur in Kombination mit anderen Milchsäurebakterien als Probiotikum eingesetzt. [15] [57] [60]

Wie auch *Lactobacillus acidophilus* kann *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* den Cholesterinspiegel beeinflussen. Studien belegen, dass unter Einfluss der Milchsäurebakterien der Gesamtcholesterinspiegel sowie LDL gesenkt werden können, während HDL unbeeinflusst bleibt. [58] Bei Patienten, die an chronischen Erschöpfungszuständen leiden, kann *BB12*, ebenso wie *Lactobacillus acidophilus*, eine teilweise Linderung der Symptome bewirken. [53] Wie bereits erwähnt, kann *Bifidobacterium animalis* Infektionen mit anderen Mikroorganismen bei Säuglingen und Kleinkindern vorbeugen. In neueren Untersuchungen wurde bewiesen, dass auch die Unterart *BB12* einen positiven Einfluss auf die Gesundheit von Neugeborenen und Säuglingen haben kann, wenn es regelmäßig zugeführt wird. Dabei wird aber nicht die Darmgesundheit allein verbessert, sondern auch das Risiko für Infektionen des Respirationstraktes vermindert. [59]

2. Material und Methoden

2.1. Herstellen eines Man – Rogosa – Sharpes (MRS) – Mediums

2.1.1. Rezept MRS – Bouillon ohne Glucose (MRS- – Medium) [61]

Pepton aus Casein	10,0 g
Fleischextrakt	8,0 g
Hefeextrakt	4,0 g
Di – Kaliumhydrogenphosphat	2,0 g
TWEEN 80	1,0 g
Di – Ammoniumhydrogencitrat	2,0 g
Natriumacetat	5,0 g
Magnesiumsulfat	0,2 g
Cystein – HCl	0,5 g
Mangansulfat	0,04 g

Die Substanzen wurden in einen 1000 ml Messzylinder eingewogen und auf 900 ml* mit Aqua destillata aufgefüllt.

*(Das Medium wurde deshalb nur auf 900 ml aufgefüllt, weil nach dem Autoklavieren 100 ml Zuckerstandard zugesetzt wurden.)

Nachdem sich die einzelnen Bestandteile unter Rühren gelöst hatten, wurde die Lösung für 2 Stunden bei 121 °C autoklaviert und bis zur weiteren Verwendung bei 4 °C aufbewahrt.

2.1.2. MRS – Bouillon mit Glucose (MRS+ – Medium)

Das MRS+ – Medium wurden mit denselben Substanzen wie das MRS- – Medium, das unter 2.1.1. beschrieben wurde, hergestellt. Man löste die Substanzen in 900 ml Aqua destillata und autoklavierte die Lösung für 2 Stunden bei 121°C.

Eine 20%ige Glucoselösung wurde hergestellt, indem 200 g Glucose in 1000 ml Aqua destillata unter Rühren gelöst wurden. Anschließend wurde die Lösung 2 Stunden lang bei 121°C autoklaviert und bis zur weiteren Verwendung auf 4°C gelagert.

Nach dem Autoklaviervorgang wurde dem Medium 100 ml 20 Gewichts%-ige Glucoselösung zugesetzt, sodass das MRS+ – Medium nun 1000 ml ergab, mit 2% Glucose.

Die Glucoselösung wurde erst nach dem Autoklaviervorgang zugesetzt, da es sonst zu einer Maillard Reaktion zwischen den Aminosäuren und dem Zucker gekommen wäre.

2.2. Herstellen der Zuckerlösungen

Für die Untersuchungen wurden 2 Gewichts%-ige Zuckerlösungen aus denen in Tabelle 1, Kapitel 2.2. aufgelisteten Saccharide hergestellt.

(Einige Zucker waren für eine 2%ige Lösung selbst nach Erhitzen nicht ausreichend löslich. Deshalb wurden diese Zuckerlösungen weiter verdünnt, sodass am Ende des Sterilisationsvorganges 0,4%ige Zuckerstandards in die Mikrotiterplatte zu den Bakterienkulturen pipettiert wurden. Die Zuckerlösungen wurden autoklaviert (2 Stunden bei 121 °C) oder durch einen Membranfilter gereinigt und bis zur weiteren Verwendung auf 4°C gelagert.

Tabelle 1: Liste, der im Rahmen der Diplomarbeit verwendeten Mono-, Oligo- und Polysaccharide

	Bezeichnung der Probe	Pflanzenname (Pflanzenfamilie) / Firma	Merkmale und Aussehen	Zucker
1	Negativkontrolle		Aqua dest. autoklaviert	
2	Taro Stärke (0,4%)	<i>Colocasia esculenta</i> – Taro (Araceae)	gräulich-weißes Pulver; Probe 23.3.2004	α -Glucan, Stärke
3	Jackfrucht Stärke (0,4%)	<i>Artocarpus heterophyllus</i> – Jackfrucht (Moraceae)	feines, weißes Pulver; Probe 22.3.2004	α -Glucan, Stärke
4	Betaven I (0,4%)	Firma: Microstructure sp.zo.o. Warschau	hellbraunes Pulver; Probe Dez. 2008	30% β -Glucan
5	Chaga Tee (0,4%)	<i>Inonotus obliquus</i> / <i>Fungus betulinus</i> – Chaga (Basidiomycetes)	dunkelbraune Stücke des zermahlenden Pilzes	vorwiegend β -Glucan
6	Reisstroh (0,4%)	Oligomer vom Reisstroh	gefriergetrocknetes, braunes, granulatartiges Pulver	β -Glucan
7	Cellobiose (0,4%)	Firma: Glycon Bioch. GmbH	weißes Pulver	β -Glucan
8	Betaven II (0,4%)	Firma: Microstructure sp.zo.o. Warschau	weißes, feinkörniges Granulat	wasserlösliche Fraktion des β -D-Glucans von Betaven; mit MeOH ausgefällt
9	Glucose (2%)	Firma: Sigma Aldrich	weißes Pulver	Monosaccharide
10	Lactose (2%)	Firma: Sigma Aldrich	weißes Pulver	Monosaccharide
11	D (+) Mannose (2%)	Firma: Sigma Aldrich	weißes Pulver	Monosaccharide
12	D (+) Maltose (2%)	Firma: Sigma Aldrich	weißes Pulver	Monosaccharide
13	D (+) Galaktose (0,2%)	Firma: United States Biochem. Corp.	weißes Pulver	Monosaccharide
14	Naxus (0,4%)	Präparat isoliert aus Weizenkleie	weiße, zusammenheftende Flocken	wasserlösliches L-Arabinoxylan
15	Hyptis I (0,4%)	<i>Hyptis suaveolens</i> (Lamiaceae)	weiße Schülpen	Heteropolysaccharide
16	Hyptis II (0,4%)	<i>Hyptis suaveolens</i> (Lamiaceae)	hellbraun - weißliche Flocken	Polysaccharide von Hyptis, modifiziert mit Pektinase

17	Hyptis III (0,4%)	<i>Hyptis suaveolens</i> (Lamiaceae)	weißes Pulver	Polysaccharide von Hyptis, modifiziert mit α -Glucosidase
18	Hyptis IV (0,4%)	<i>Hyptis suaveolens</i> (Lamiaceae)	weißes Pulver	Polysaccharide von Hyptis, modifiziert mit endo-1,4 β -Mannanase
19	Hyptis V (0,4%)	<i>Hyptis suaveolens</i> (Lamiaceae)	dunkelbraun – karamellartige Masse	neutrale Polysaccharide von Hyptis, modifiziert mit Pektinase + Ionenaustauscher
20	Hyptis VI (0,4%)	<i>Hyptis suaveolens</i> (Lamiaceae)	weißes Pulver	saure Polysaccharide von Hyptis, modifiziert mit Pektinase + Ionenaustauscher, Fraktion I
21	Hyptis VII (0,4%)	<i>Hyptis suaveolens</i> (Lamiaceae)	weißes Pulver	saure Polysaccharide von Hyptis, modifiziert mit Pektinase + Ionenaustauscher, Fraktion II
22	Hyptis VIII (0,4%)	<i>Hyptis suaveolens</i> (Lamiaceae)	weiße, zusammenheftende Flocken	saure Polysaccharide von Hyptis, modifiziert mit NaOH + Ionenaustauscher; mit MeOH gefällt
23	Hyptis IX (0,4%)	<i>Hyptis suaveolens</i> (Lamiaceae)	weiße Schülpen	Gesamtpolysaccharide von Hyptis, modifiziert mit KOH
24	Hyptis X (0,4%)	<i>Hyptis suaveolens</i> (Lamiaceae)	weißes Pulver	Oligosaccharide von Hyptis, modifiziert mit α -Glucosidase
25	Hyptis XI (0,4%)	<i>Hyptis suaveolens</i> - (Lamiaceae)	hellgelbes Pulver	Oligosaccharide von Hyptis, modifiziert mit endo-1,4 β -Mannanase
26	Ocimum I (0,4%)	<i>Ocimum basilicum</i> – Königskraut / Basilikum (Lamiaceae)	gefriergetrocknete, cremefarbene Flocken	wasserlösliche Fraktion der Heteropolysaccharide

27	Ocimum II (0,4%)	<i>Ocimum basilicum</i> – Königskraut / Basilikum (Lamiaceae)	gefriergetrocknete, weiße Flocken	wasserlösliche Fraktion der Heteropolysaccharide
28	Ocimum III (0,4%)	<i>Ocimum basilicum</i> – Königskraut / Basilikum (Lamiaceae)	hellbraunes, filzartiges Gebilde	Polysaccharide von Ocimum, modifiziert mit Pektinase
29	Ocimum IV (0,4%)	<i>Ocimum basilicum</i> – Königskraut / Basilikum (Lamiaceae)	weißes, kristallines Pulver	Polysaccharide von Ocimum, modifiziert mit NaOH + Ionenaustauscher
30	Ocimum V (0,4%)	<i>Ocimum basilicum</i> – Königskraut / Basilikum (Lamiaceae)	weißes Pulver	Polysaccharide von Ocimum, modifiziert mit α -Amylase
31	Ocimum VI (0,4%)	<i>Ocimum basilicum</i> – Königskraut / Basilikum (Lamiaceae)	hellgelb - weißliche Flocken	Polysaccharide von Ocimum, modifiziert mit Amyloglucosidase
32	Ocimum VII (0,4%)	<i>Ocimum basilicum</i> – Königskraut / Basilikum (Lamiaceae)	hellbraunes, filzartiges Gebilde	saures Polysaccharid von Ocimum, modifiziert mit NaOH + Ionenaustauscher
33	Ocimum VIII (0,4%)	<i>Ocimum basilicum</i> – Königskraut / Basilikum (Lamiaceae)	weiß – gelbliches, klebriges Pulver	Oligosaccharide von Ocimum, modifiziert mit α -Amylase
34	Ocimum IX (0,4%)	<i>Ocimum basilicum</i> – Königskraut / Basilikum (Lamiaceae)	weiß – gelbliches, klebriges Pulver	Oligosaccharide von Ocimum, modifiziert mit Amyloglucosidase
35	Resource Benefiber I (2%)	Optifiber; <i>Cyamopsis</i> <i>tetragonolobus</i> – Guarbohne (Fabaceae); Firma: Novartis	gelblich-weißes Pulver	Guar- Heteropolysaccharide
36	Resource Benefiber II (0,4%)	Optifiber; <i>Cyamopsis</i> <i>tetragonolobus</i> – Guarbohne (Fabaceae); Firma: Novartis	weißes Pulver	Heteropolysaccharide (hydrolysierte Galactomannane)
37	Liquiritiae radix pulvis (0,4%)	<i>Glycyrrhiza glabra</i> – Süßholz (Fabaceae)	gelblich grüne Späne und Pulver; Probe Mai 2013	Polysaccharide
38	Raftiline ST (0,4%)	<i>Cichorie</i> – Wegwarte (Asteraceae); Firma: ORAFTI	feines, weißes Pulver	Polysaccharide (Fructan: Inulin)

39	Raftiline GR (0,4%)	<i>Cichorie</i> – Wegwarte (Asteraceae); Firma: ORAFTI	feines, weißes Pulver	Polysaccharide (Fructan: Inulin)
40	Frutafit IQ (0,4%)	<i>Cichorie</i> – Wegwarte (Asteraceae); Firma: NEUBER GesmbH, Division of Brenntag	weißes Pulver	Polysaccharide (Fructane aus Cichorie (Inulin))
41	Sterculia (0,4%)	<i>Sterculia urens</i> – Stinkbaum (Malvaceae)	hellgelbes Pulver	wasserlösliche Oligosaccharide, modifiziert und gereinigt mit NaOH
42	Actilight 950 P (0,4%)	Firma: Beghin – Meiji Industries	weißes Pulver	Fructo - Oligosaccharide
43	Raftilose P 95 (0,4%)	<i>Cichorie</i> – Wegwarte (Asteraceae); Firma: ORAFTI	feines, weißes Pulver	Fructo - Oligosaccharide (abgebautes Inulin)
44	getrocknetes Sterculiapulver *	<i>Sterculia urens</i> – Stinkbaum (Malvaceae)	dunkelbraunes Pulver	*Probe verworfen wegen zu hoher Viskosität
45	Flohsamenschalen *	<i>Plantago ovata</i> – Indischer Flohsamen (Plantaginaceae)	hellgrau – weißliches Pulver	*Probe verworfen wegen zu hoher Viskosität

2.3. Verwendete Bakterienkulturen

Im Rahmen der Diplomarbeit wurde das Wachstum der folgenden 7 Bakterienstämme unter Einfluss der in Tabelle 1, Kapitel 2.2. genannten Saccharide getestet:

- *Lactobacillus rhamnosus* GG, ATCC 53103
- *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, CRL 431 (Chr. Hansen)
- *Lactobacillus casei* (Immunitas), DN-114001 aus Actimel® (Danone)
- *Lactobacillus paracasei* (Shirota), aus Yakult®
- *Lactobacillus reuteri*, ATCC 55730
- *Lactobacillus acidophilus*, (La 5) (Chr. Hansen)
- *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*, (Bf 3) bzw. (BB12) (Chr. Hansen)

Um mit den Bakterienstämmen arbeiten zu können, wurden diese zuerst angezüchtet. Aus den Bakterienausgangskulturen wurden auf Agarplatten fraktionierte Ausstriche angefertigt.

2.4. Anzucht der Bakterienkulturen

Alle Arbeitsschritte wurden in einer Laminar – Air – Flow – Werkbank der Klasse II durchgeführt, um Verunreinigungen mit anderen Mikroorganismen auszuschließen. Ein fraktionierter Ausstrich der Ausgangskulturen auf MRS – Agar wurde angefertigt, um isolierte Kulturen zu erhalten.

Für einen Ganzplattenausstrich wurde eine kleine Menge Ausgangskultur auf die Agarplatte pipettiert und mit dem Drigalskispatel verstrichen.

Die Agarplatte wurde über Nacht bei 37°C im Anaerobierschrank *WTC – binder APT Line VD23/53/115* bebrütet und bis zur weiteren Verwendung in der Kühlkammer bei 4°C gelagert.

Eine frische Bakteriensuspension wurde am Vortag jedes Experiments hergestellt, indem eine isolierte Bakterienkultur in 10 ml MRS+ – Flüssigmedium aufgenommen wurde oder 1 ml Bakterienkultur mit 9 ml MRS+ – Medium verdünnt und über Nacht im, mit Stickstoff – befüllten, Anaerobierschrank bei 37°C bebrütet wurde.

Im nächsten Arbeitsschritt wurde die OD 600 (optical density beziehungsweise optische Dichte bei einer Wellenlänge von 600nm) von einer frisch angezüchteten Bakterienkultur mit dem Photometer des Typs *Hitachi U-1100 Spectrophotometer* bestimmt. Mit den erhaltenen Messwerten berechnete man die Verdünnung, die nötig war, um eine OD 600 von 0,1 bzw. 0,2 zu erhalten. Die berechnete Menge Bakterienkultur wurde in ein steriles Eppendorf Röhrchen pipettiert. Dieses wurde für 15 Minuten bei 10 000 Umdrehungen pro Minute (rounds per minute - rpm) zentrifugiert und das Pellet 3 Mal mit 1 ml MRS- – Medium für 10 Minuten bei 10 000 rpm gewaschen. Nach dem 3. Waschvorgang wurde das Pellet in 1 ml MRS- – Lösung resuspendiert und mit MRS- – Medium auf eine OD 600 von 0,1 bzw. 0,2 verdünnt.

2.5. Bioscreen C – Messungen und Tecan – Messungen

Bevor die Messungen im Bioscreen C – Messgerät des Typs *Labsystems Bioscreen C* *bartelt Type FP-1100C*, beziehungsweise im Spektralphotometer *Tecan Infinite M200 No.30016411* stattfinden konnten, wurden in jedes Well 300 µl pipettiert, die sich je nach Ausgangskonzentration der Zuckerlösung aus

- 150 µl Bakteriensuspension + 150 µl Zuckerlösung oder Wasser als Negativkontrolle bzw.
- 270 µl Bakteriensuspension + 30 µl Zuckerlösung oder Wasser als Negativkontrolle zusammensetzten.

Die befüllte Mikrotiterplatte wurde im Bioscreen C – Messgerät (beziehungsweise im Tecan – Spektralphotometer) positioniert.

Das Bioscreen C – Messgerät ist ein Inkubator und Photometer in Einem und misst die Trübung, die durch die wachsenden Bakterienkulturen entsteht. Die Bakterien wurden für 48 Stunden bei 37°C bebrütet und stündlichen Messungen der optischen Dichte bei 600nm (OD 600) unterzogen.

3. Resultate

Nach der Durchführung von 3 bzw. 4 Durchgängen der OD 600 – Messungen im Bioscreen C – Messgerät für die Kulturen von *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus reuteri* und *Lactobacillus acidophilus* unter Einfluss ausgewählter Saccharide (Tabelle 1, Kapitel 2.2.) wurden die Mittelwerte berechnet und in Wachstumskurven graphisch dargestellt.

Trotz mehrmaliger Versuche wurde die Bakterienkultur *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* für die Messungen ausgeschlossen, da diese Kultur unter den aeroben Bedingungen im Bioscreen C – Messgerät als auch im Spektralphotometer (Tecan) nur sehr geringes Wachstum zeigte, wie in Kapitel 3.7. ersichtlich wird.

3.1. *Lactobacillus rhamnosus* GG

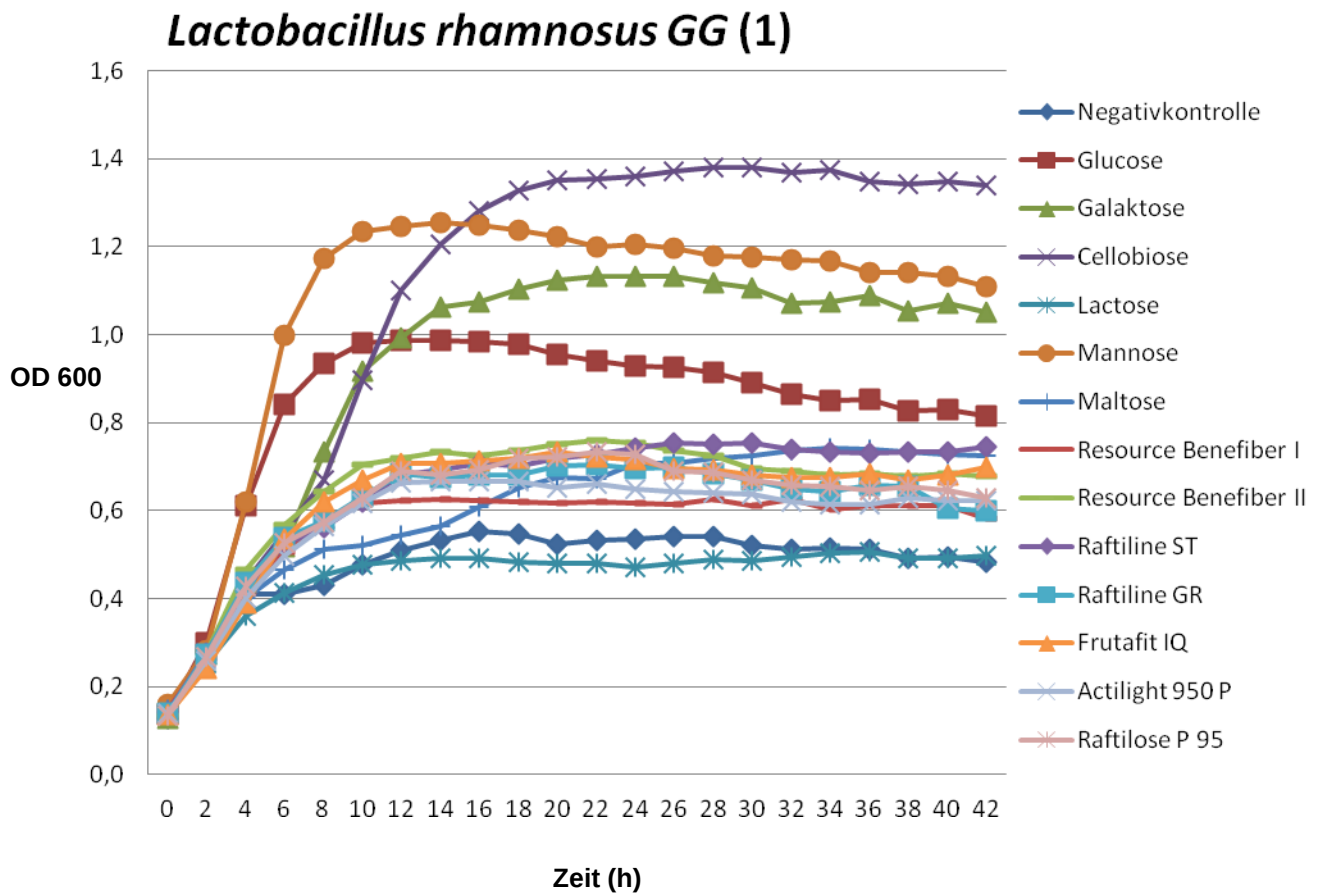


Abb.1. Wachstumskurven von *Lactobacillus rhamnosus* GG unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (1)

Wie aus Abb.1. ersichtlich, ist das Wachstum von *Lactobacillus rhamnosus* GG unter Einfluss von Cellobiose am stärksten. Auch Mannose und Galaktose zeigen gute Wachstums Voraussetzungen für die Bakterienkultur. Alle 3 Zuckerlösungen liegen über der Glucose – Lösung, die in allen Messungen als Positivkontrolle dient.

Die restlichen Zuckerlösungen liegen zwar unter der Positivkontrolle, dennoch sieht man auch hier deutliches Wachstum der *Lactobacillus rhamnosus* GG – Kultur.

Lediglich mit Lactose zeigt *Lactobacillus rhamnosus* GG fast keine Zellvermehrung.

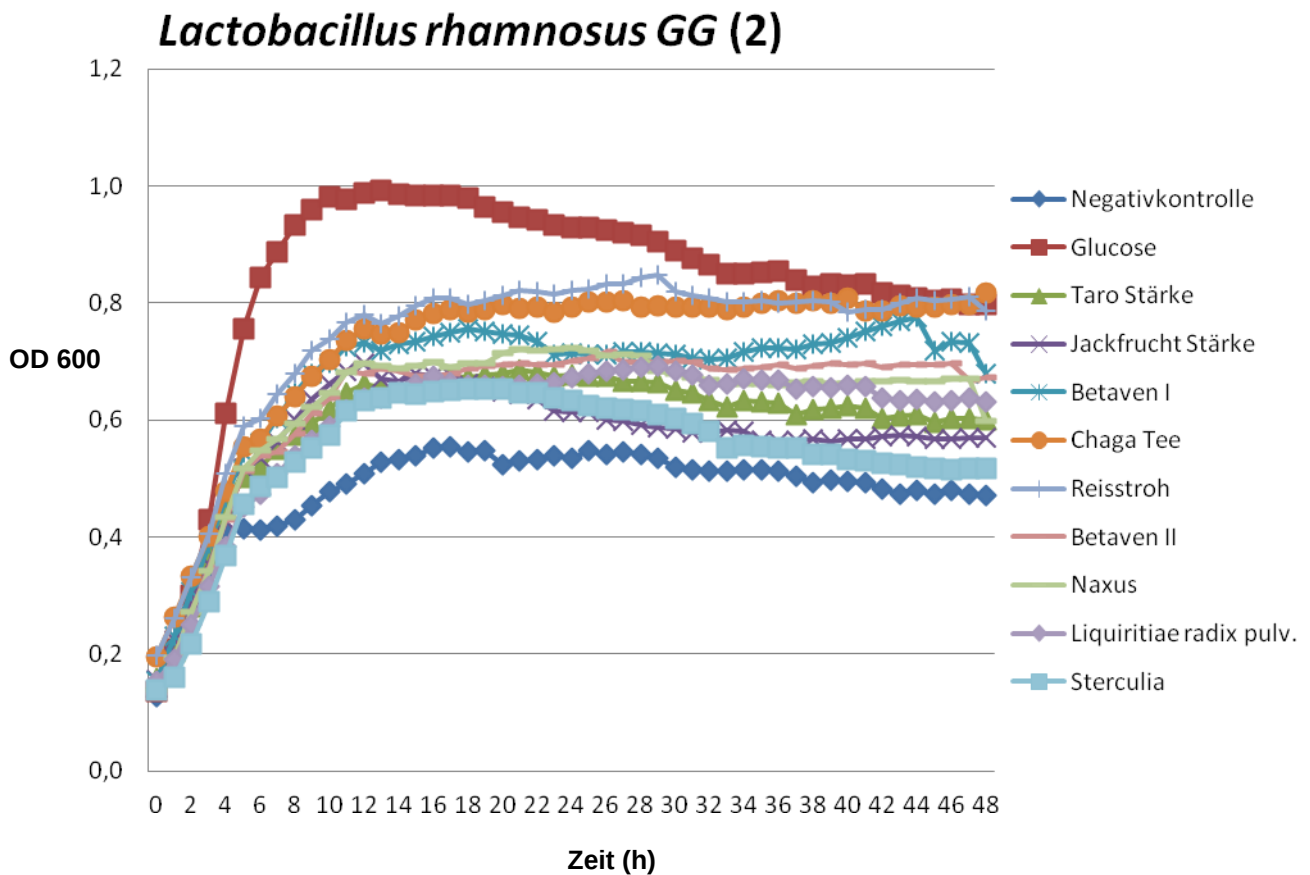


Abb.2. Wachstumskurven von *Lactobacillus rhamnosus* GG unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (2)

Lactobacillus rhamnosus GG zeigt in Abb.2. das beste Wachstum, wenn es mit Reisstroh – sowie Chaga Tee – Lösung versetzt wird. Auch die Lösungen von Betaven I, Betaven II, Naxus und Liquiritiae radix pulv. haben einen positiven Einfluss auf das Wachstum der Zellen. Weiters liegen über der Negativkontrolle die Zuckerlösungen von Taro Stärke, Jackfrucht Stärke und Sterculia und sind somit positiv in der Beeinflussung des Wachstums von *Lactobacillus rhamnosus* GG zu bewerten.

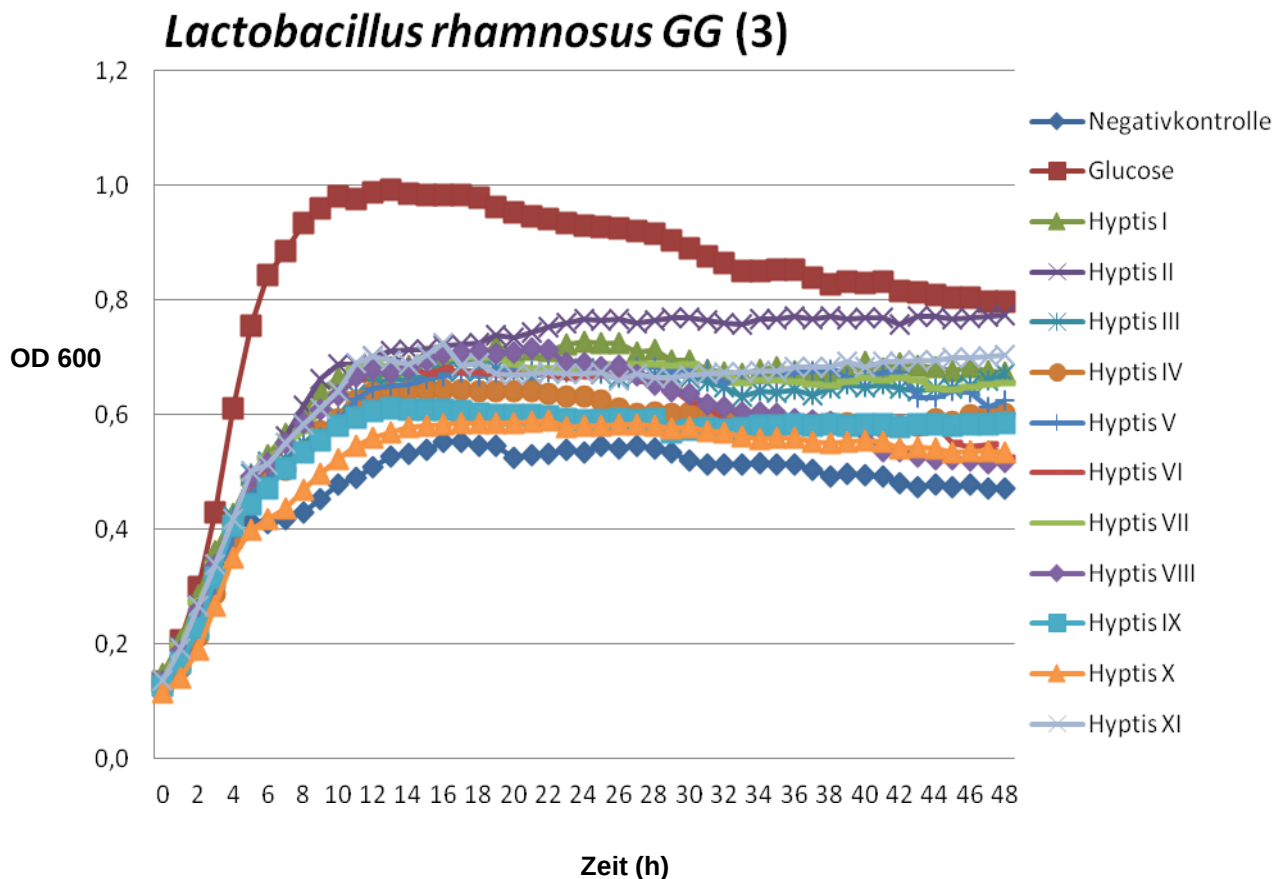


Abb.3. Wachstumskurven von *Lactobacillus rhamnosus* GG unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (3)

Lactobacillus rhamnosus GG zeigt in Abb.3. unter dem Einfluss von Hyptis II – Lösung das beste Wachstum. Auch die Proben Hyptis I und Hyptis XI beeinflussen die Bakterien in ihrem Wachstum positiv. Die Wachstumskurven von *Lactobacillus rhamnosus* GG liegen in allen Hyptis Proben innerhalb der Positivkontrolle und Negativkontrolle. Das bedeutet, dass jede Hyptis – Probe gute Eigenschaften bei der Zellvermehrung der Kultur zeigt.

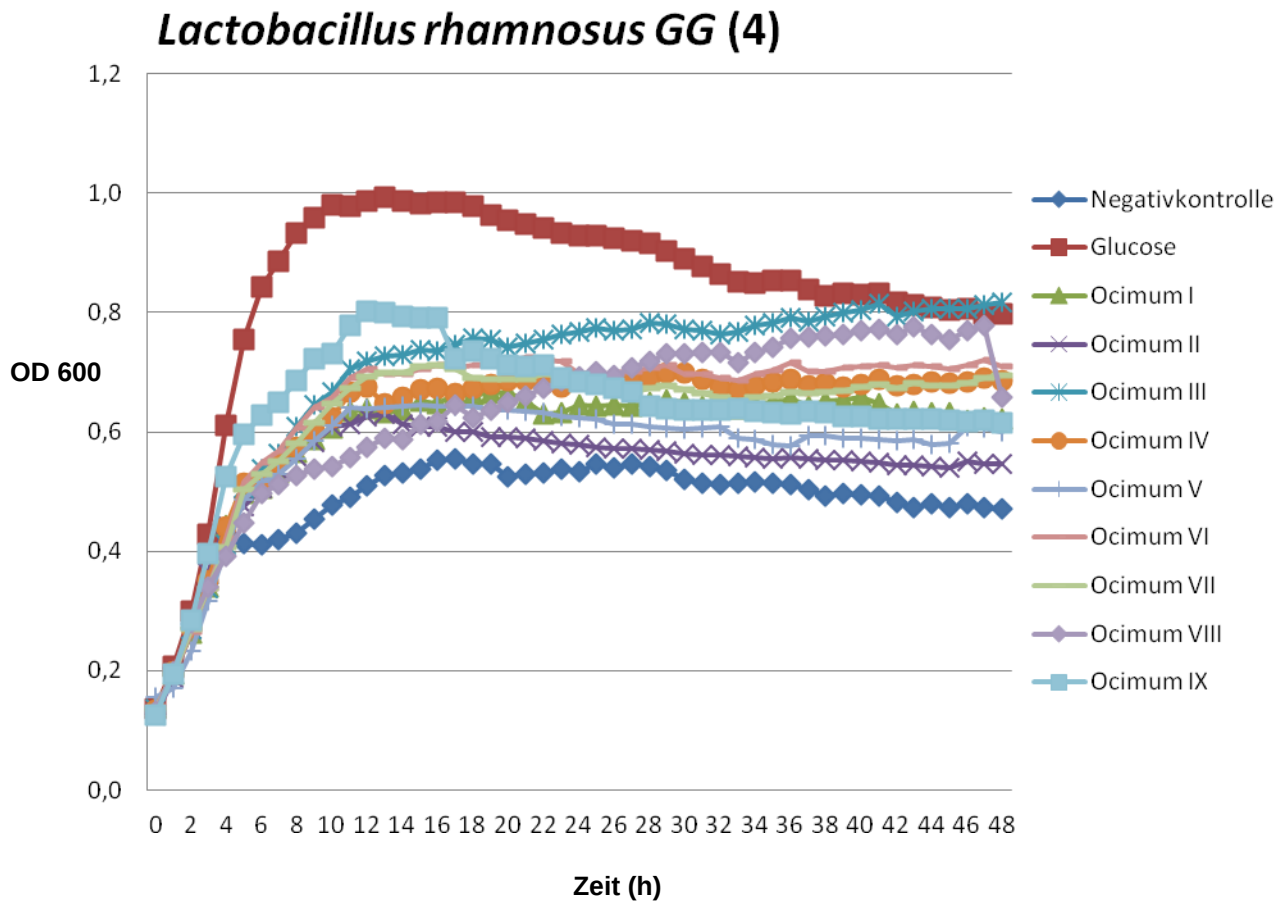


Abb.4. Wachstumskurven von *Lactobacillus rhamnosus* GG unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide (4)

Wie in Abb.4. ersichtlich, ist das beste Wachstum für *Lactobacillus rhamnosus* GG in Kombination mit Ocimum III –, gefolgt von Ocimum VIII – Lösung, zu erzielen. Die restlichen Lösungen zeigen ebenfalls einen guten Einfluss auf die Zellzunahme von *Lactobacillus rhamnosus* GG.

3.2. *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*

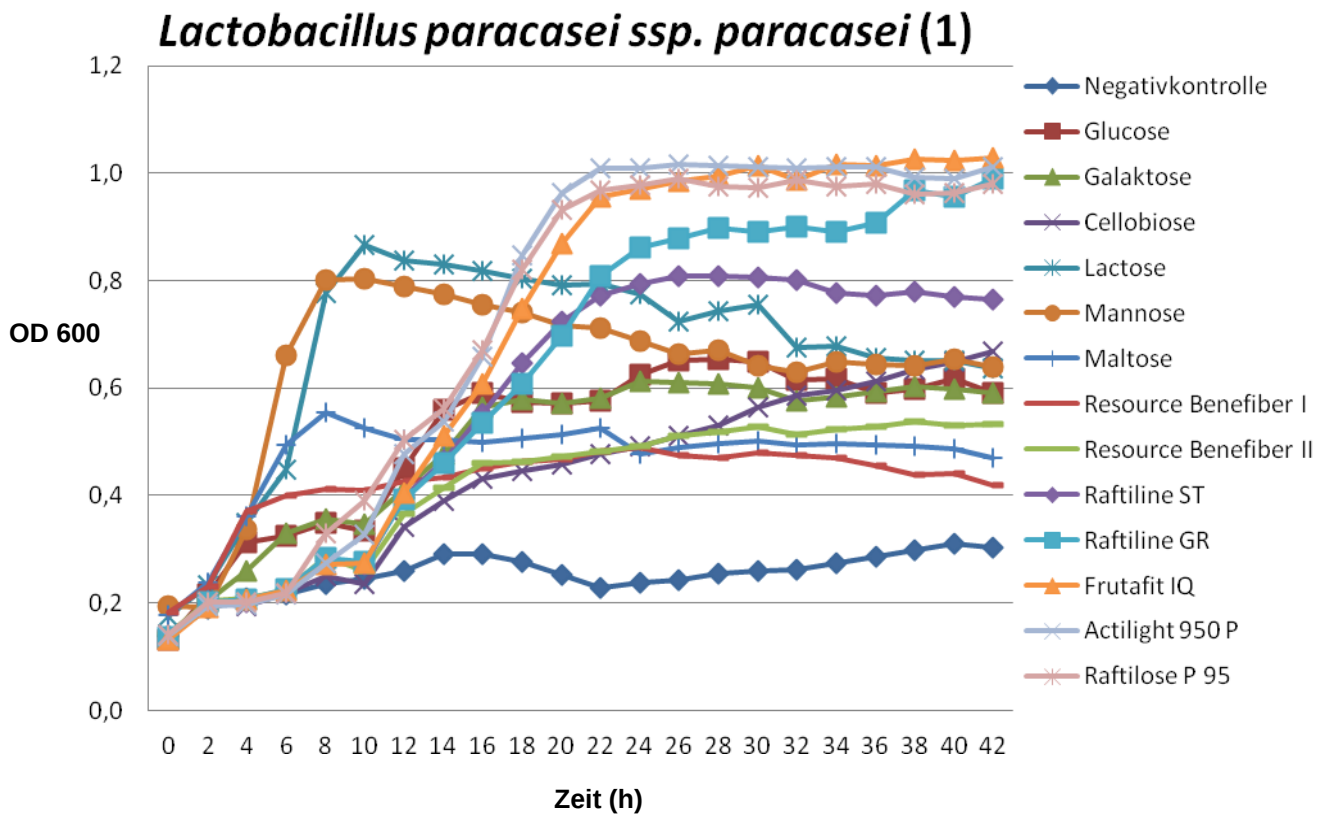


Abb.5. Wachstumskurven von *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (1)

In Abb.5. zeigt die Kultur *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* unter Einfluss mehrerer Zuckerlösungen überdurchschnittlich gutes Wachstum. Zu Beginn der Messungen ist ein schneller Wachstumsanstieg der Bakterien in Mannose – bzw. Lactoselösung deutlich zu erkennen. In den Zuckerlösungen Actilight 950 P, Raftilose P 95, Frutafit IQ, Raftiline GR und Raftiline ST steigt das Bakterienwachstum zeitverzögert, aber sehr hoch an. Auch die anderen Zuckerlösungen befinden sich mit ihrem Einfluss auf das Zellwachstums alle in Höhe der Positivkontrolle.

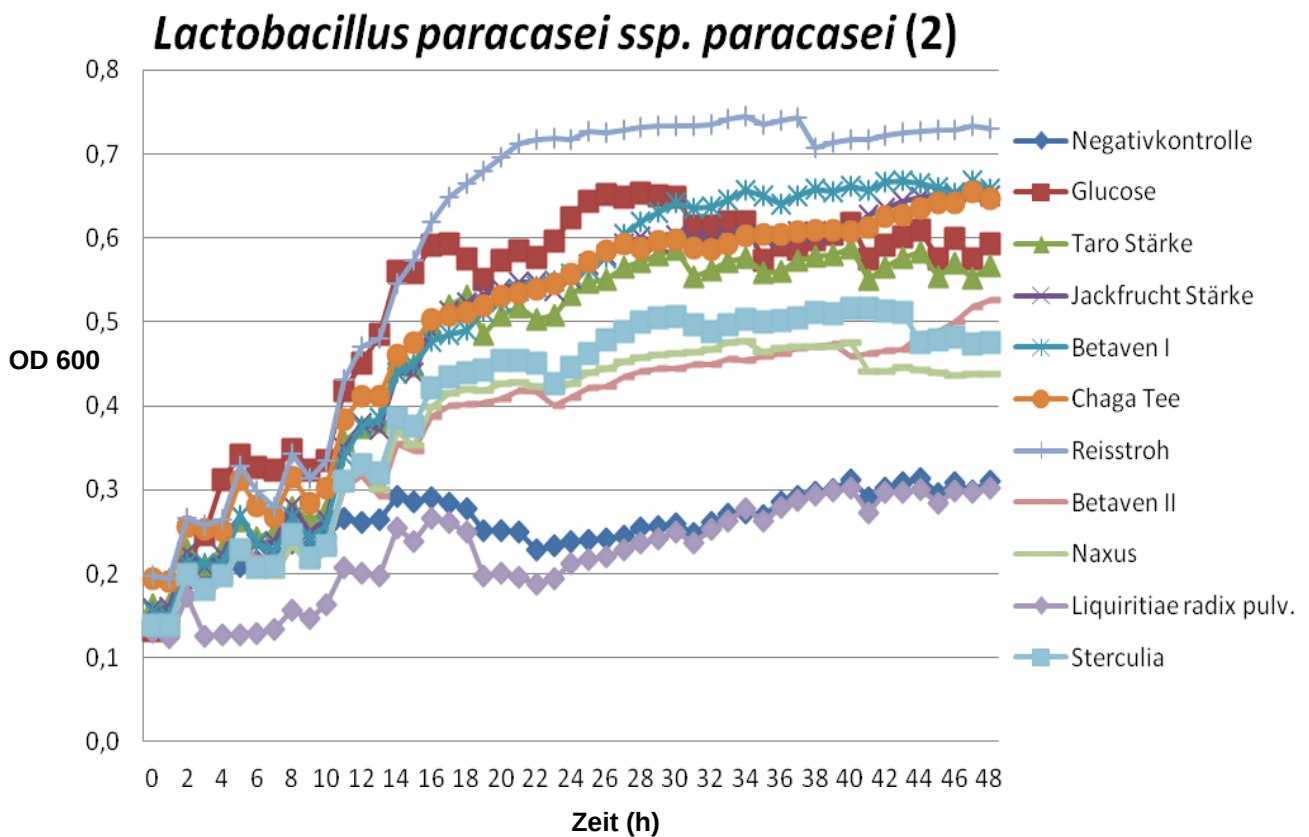


Abb.6. Wachstumskurven von *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (2)

In Abb.6. zeigt *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* in Reisstroh – Lösung das beste Wachstum. Auf Höhe der Positivkontrolle sind, mit gutem Wachstum, die Kurven von *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* in Gegenwart von Betaven I, Chaga Tee, Jackfrucht Stärke und Taro Stärke zu erkennen. Darunter befinden sich die Wachstumskurven der Zellen in Sterculia –, Naxus –, und Betaven II – Lösung, die ebenfalls einen positiven Einfluss auf die Zellvermehrung von *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* haben. Liquiritiae radix pulv. hat keine Bedeutung für das Wachstum dieser Kultur.

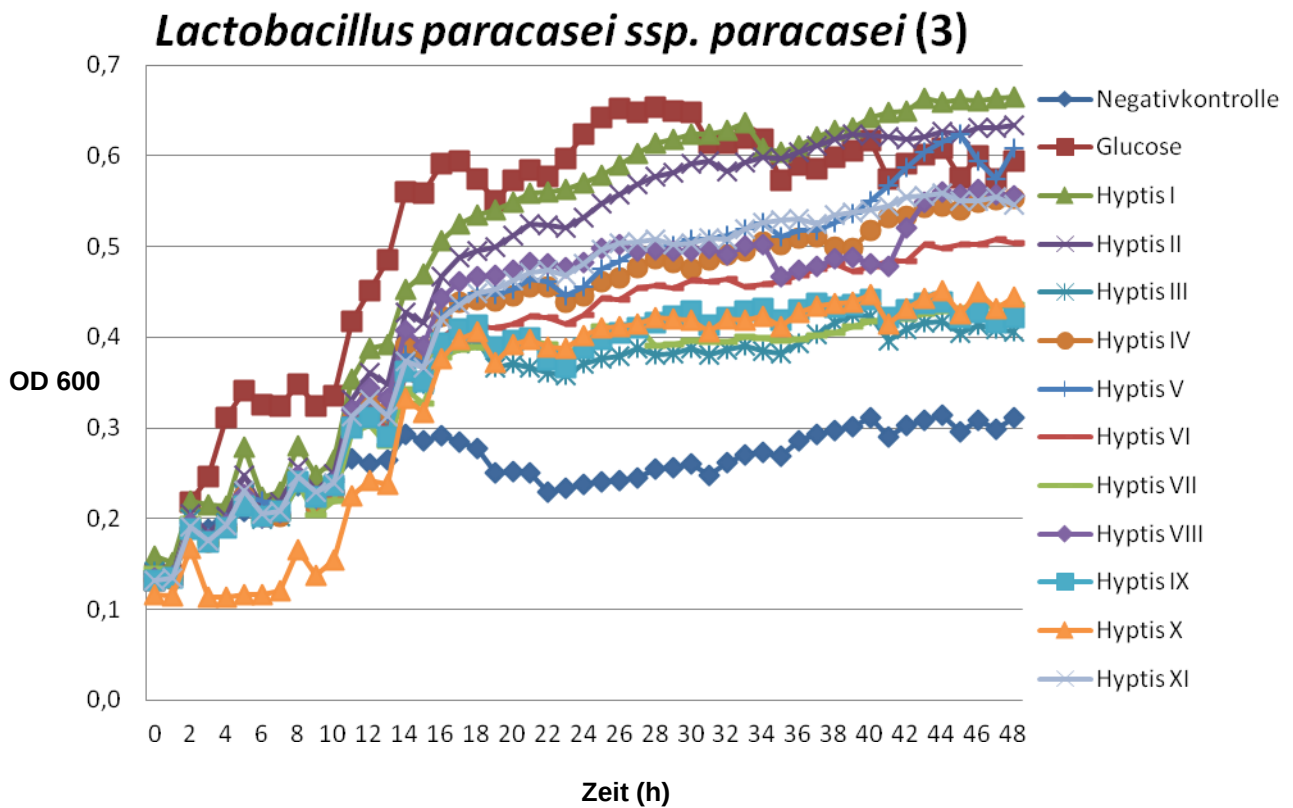


Abb.7. Wachstumskurven von *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (3)

Lactobacillus paracasei ssp. paracasei zeigt in Abb.7. in Gegenwart von Hyptis I – Lösung die größte Zunahme, gefolgt von Zellen, die in Hyptis II – Lösung kultiviert werden.

Ebenfalls auffällig ist die Wachstumskurve von Hyptis V, die gegen Ende der Messungen noch einmal kräftig ansteigt. Die Zuckerlösungen der Proben von Hyptis XI, Hyptis IV, Hyptis VIII und Hyptis VI haben auch einen guten Einfluss auf das Wachstum von *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*. Die restlichen Lösungen beeinflussen die Zellzunahme ebenso positiv. Alle Wachstumskurven der Proben liegen im Großteil der Messungen deutlich über der Negativkontrolle.

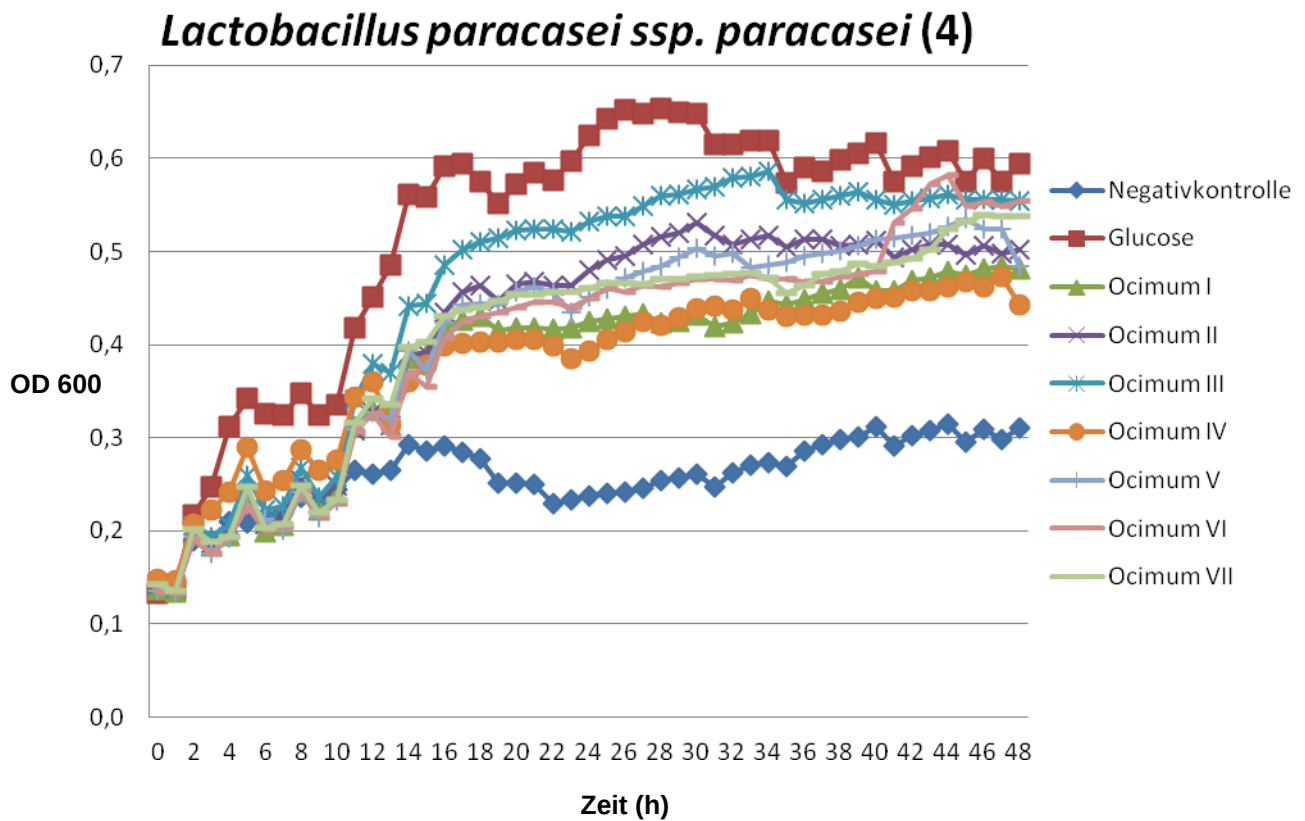


Abb.8. Wachstumskurven von *Lactobacillus paracasei* ssp.*paracasei* unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide (4)

In Abb.8. zeigt *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* in Gegenwart der Probe von Ocimum III die größte Wachstumszunahme. Ebenso gute Eigenschaften betreffend der Zellzunahme werden durch die Lösung von Ocimum VI, Ocimum II und Ocimum V erzielt. Die übrigen Ocimum – Proben nehmen auch einen positiven Einfluss auf das Wachstum von *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*.

3.3. *Lactobacillus casei*

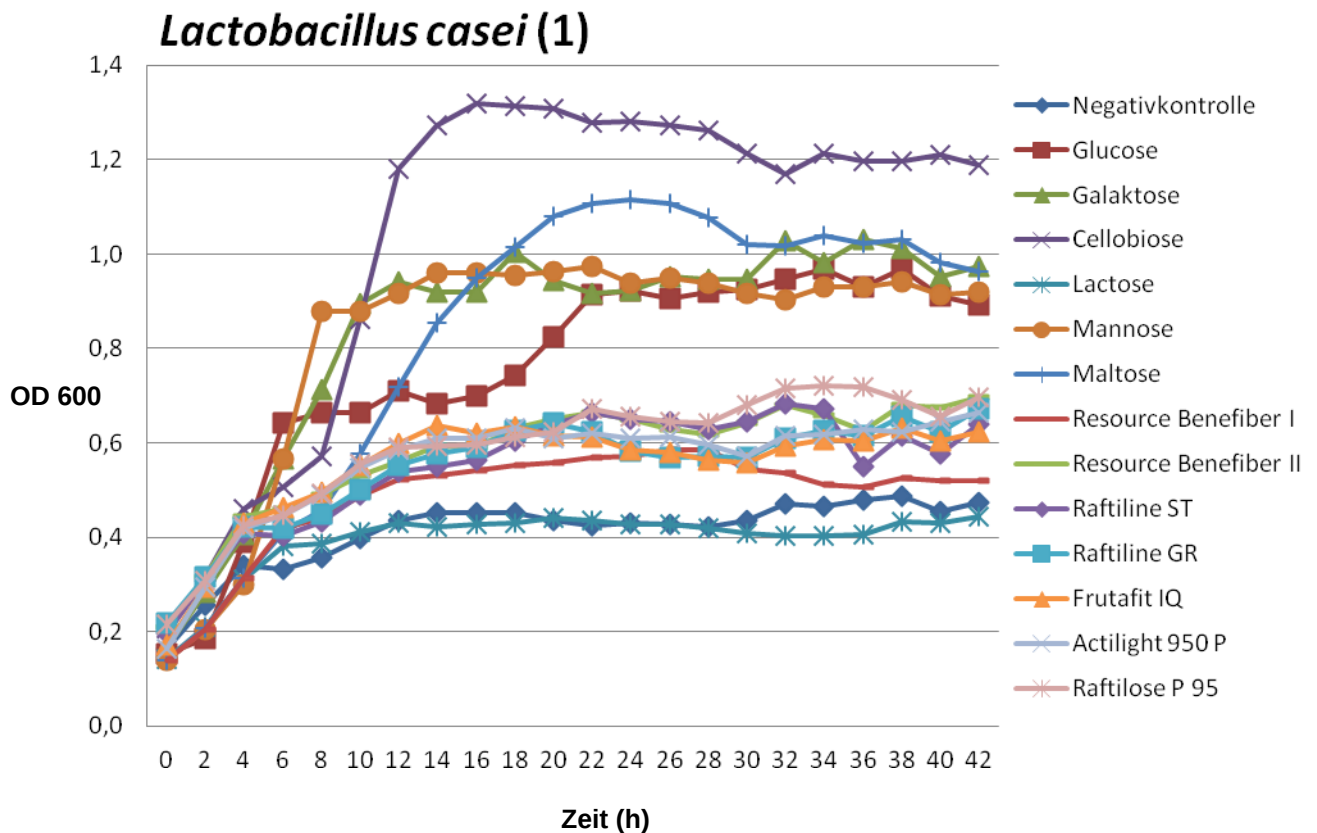


Abb.9. Wachstumskurven von *Lactobacillus casei* unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (1)

Die Kultur von *Lactobacillus casei* weist in Abb.9. außergewöhnlich gutes Wachstum in Cellobioselösung auf. Auch in Maltoselösung steigt die Zellzahl deutlich an. Die Wachstumskurven beider Lösungen liegen deutlich über der Positivkontrolle.

Das Wachstum von *Lactobacillus casei* in Galaktose – und Mannoselösung liegt auf gleicher Höhe wie die Positivkontrolle. Die anderen Zuckerlösungen liegen zwar unterhalb der Positivkontrolle, dennoch sieht man auch hier einen klaren Wachstumsanstieg. Lactose hingegen hat weniger Einfluss auf das Wachstum von *Lactobacillus casei*.

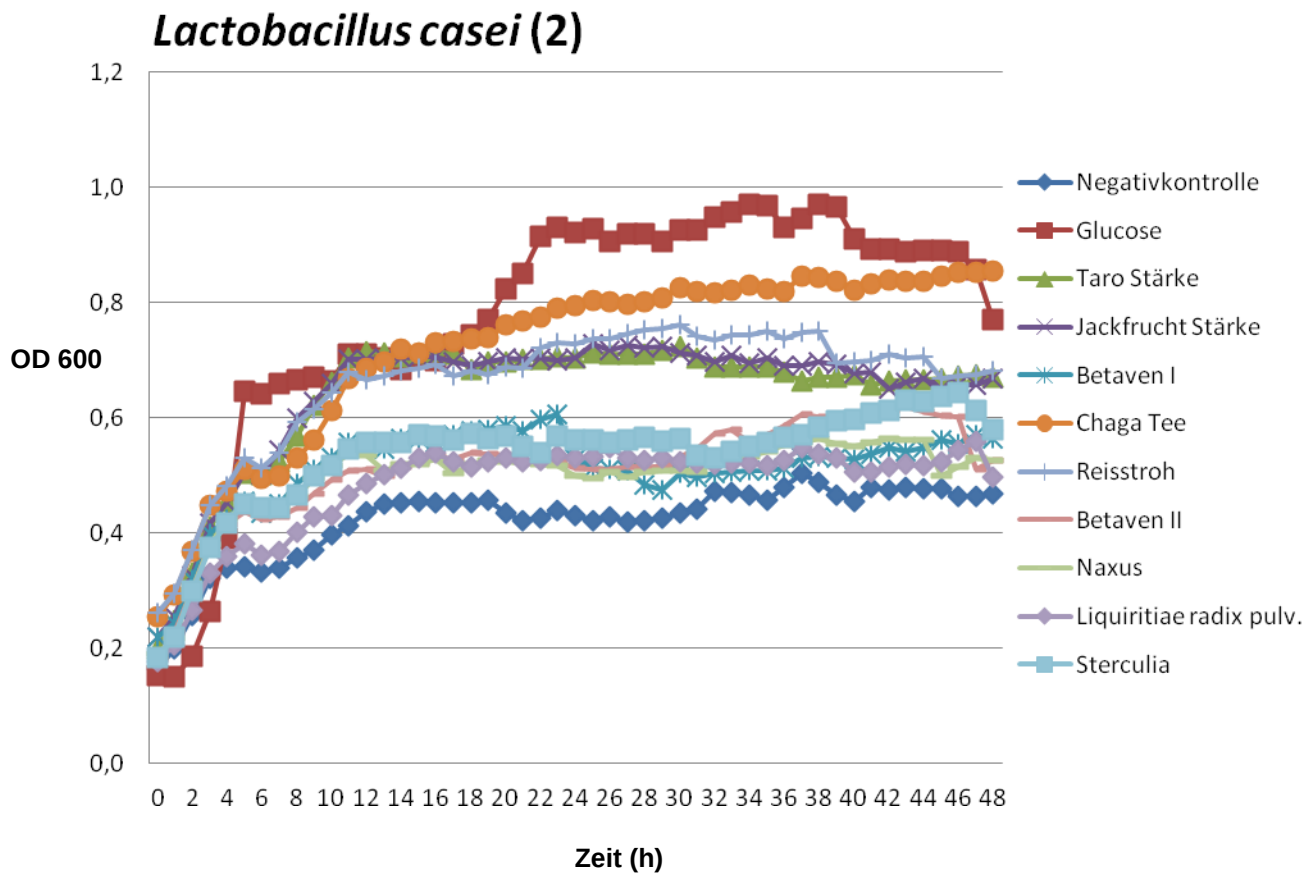


Abb.10. Wachstumskurven von *Lactobacillus casei* unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide (2)

In Abb.10. liegen alle Wachstumskurven von *Lactobacillus casei* in Gegenwart jeder Zuckerlösung genau zwischen der Positivkontrolle und der Negativkontrolle, was bedeutet, dass alle einen gewissen Einfluss auf die Zellvermehrung der Kultur haben. Die höchste Vermehrungsrate haben die Bakterien in Chaga Tee – Lösung, gefolgt von Reisstroh –, Jackfrucht Stärke – und Taro Stärke – Lösung. Die restlichen Zuckerlösungen zeigen ungefähr gleich gute Eigenschaften bei der Vermehrung der Zellen von *Lactobacillus casei*.

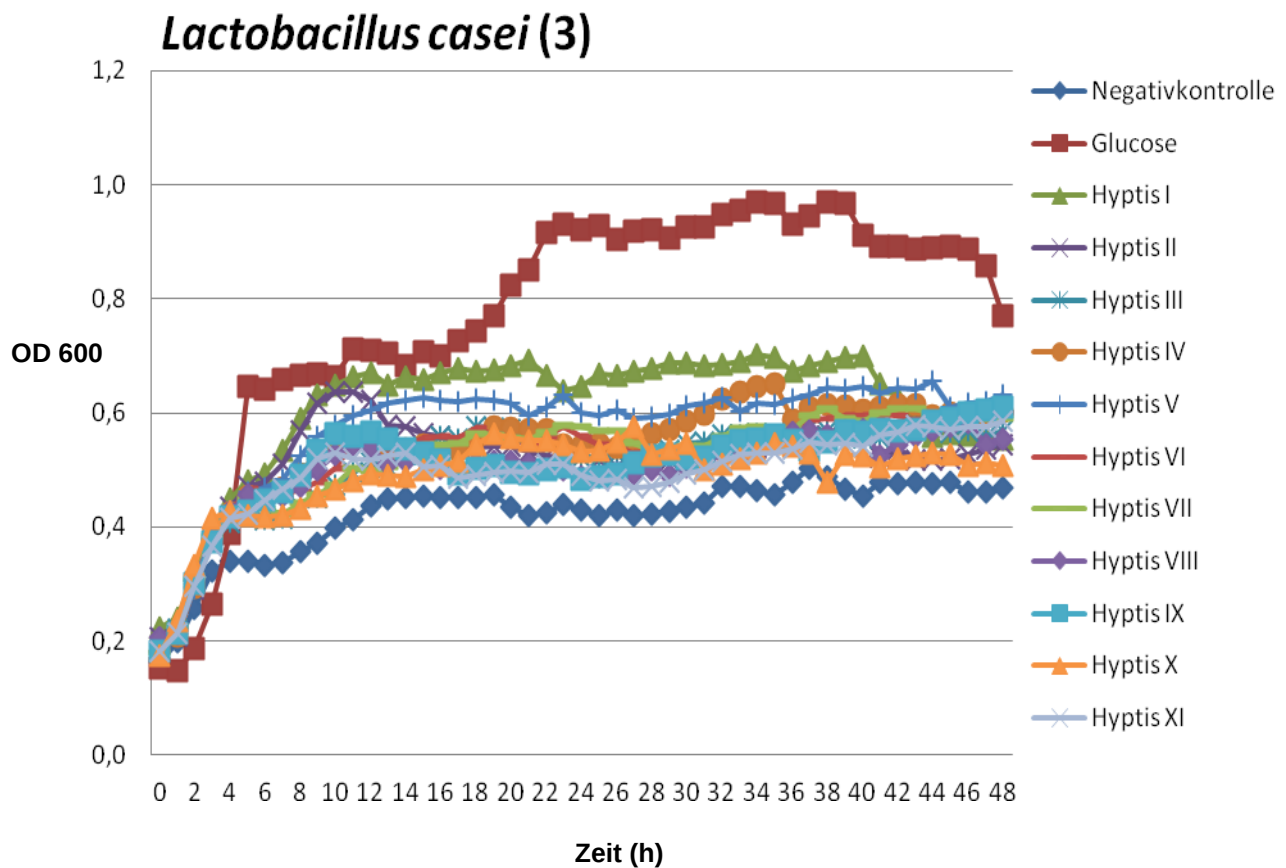


Abb.11. Wachstumskurven von *Lactobacillus casei* unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide (3)

In Abb.11. befinden sich alle Wachstumskurven von *Lactobacillus casei* in Gegenwart der Hyptis – Proben innerhalb der Positivkontrolle und Negativkontrolle. Das meiste Wachstum liefert die Kultur unter Einfluss von Hyptis I – Lösung, gefolgt von den Lösungen von Hyptis V und Hyptis IV. Die restlichen Proben sind ebenfalls als positiv in der Beeinflussung der Zellzunahme zu bewerten.

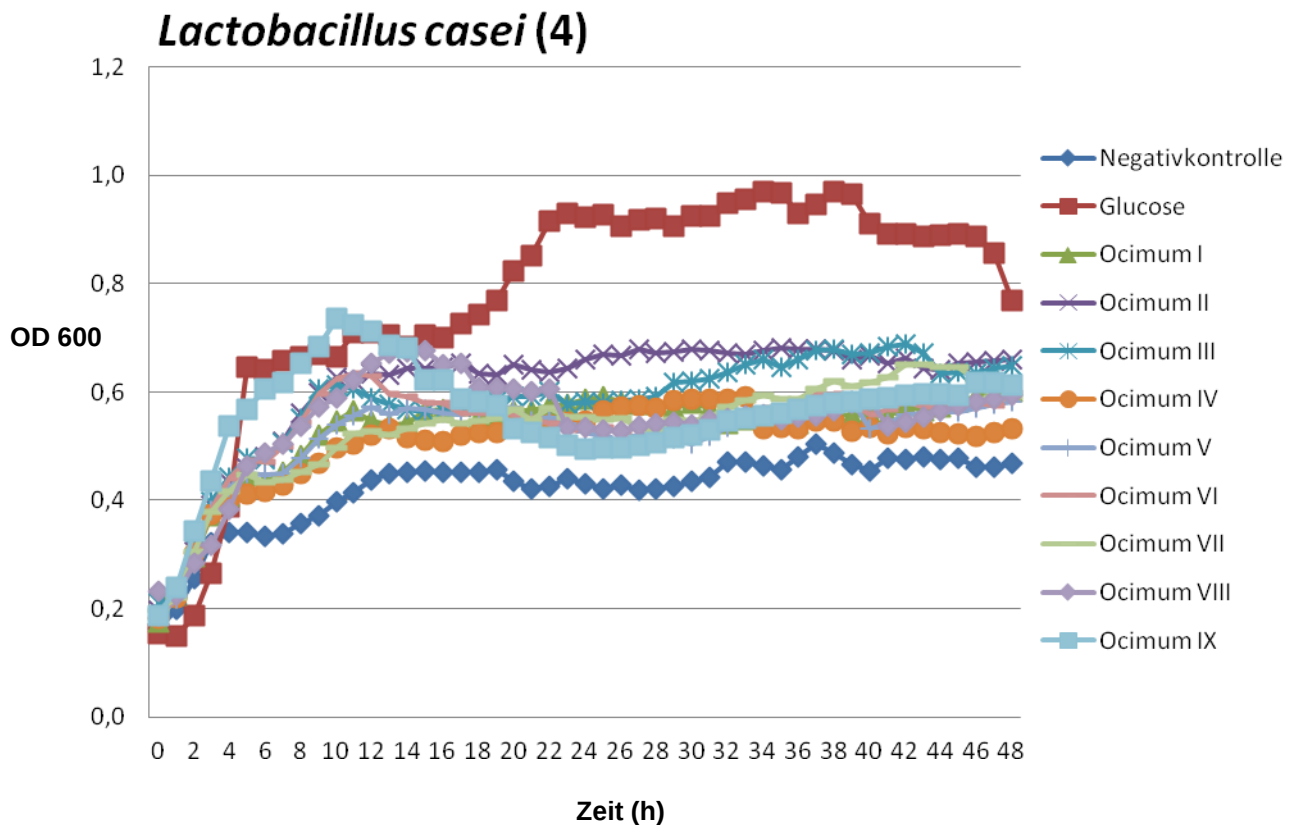


Abb.12. Wachstumskurven von *Lactobacillus casei* unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide (4)

In Abb.12. erreicht *Lactobacillus casei* das beste und gleichmäßigste Wachstum mit der Zuckerlösung von Ocimum II, gefolgt von Ocimum III. Auch die Wachstumskurven der restlichen Proben zeigen eine Zunahme der Zellzahl von *Lactobacillus casei*. Alle Proben sind als positiv zu werten, da alle Kurven innerhalb der Positivkontrolle und der Negativkontrolle liegen.

3.4. *Lactobacillus paracasei*

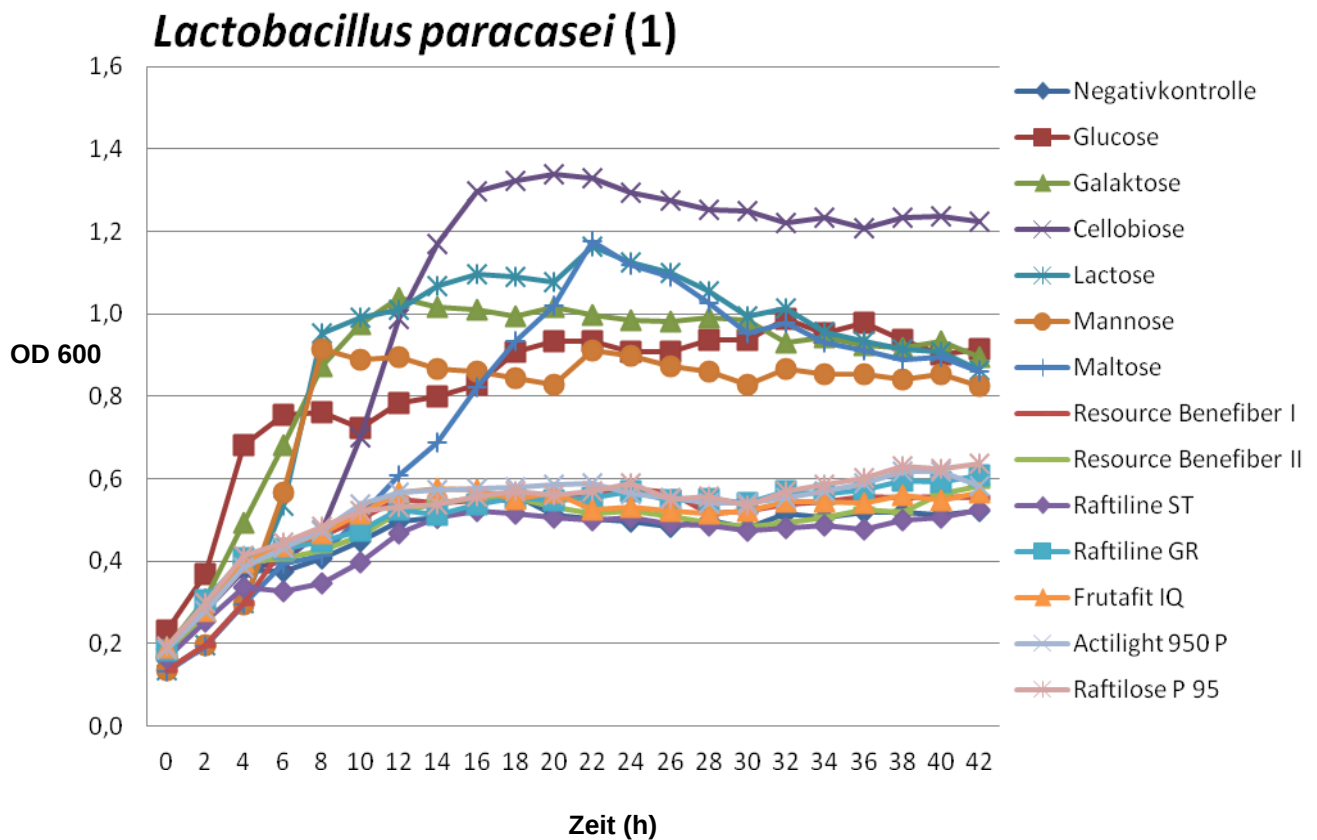


Abb.13. Wachstumskurven von *Lactobacillus paracasei* unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (1)

In Abb.13. wächst *Lactobacillus paracasei* unter Einfluss von Cellobioselösung überdurchschnittlich gut, sogar besser als mit Glucoselösung. Auch in Lactose –, Maltose –, Galaktose –, sowie Mannoselösung zeigen die Zellen eine deutliche Wachstumszunahme. Die restlichen Zuckerlösungen haben eher weniger Einfluss auf das Wachstum von *Lactobacillus paracasei*. Die Wachstumskurven liegen in gleicher Höhe wie die Negativkontrolle.

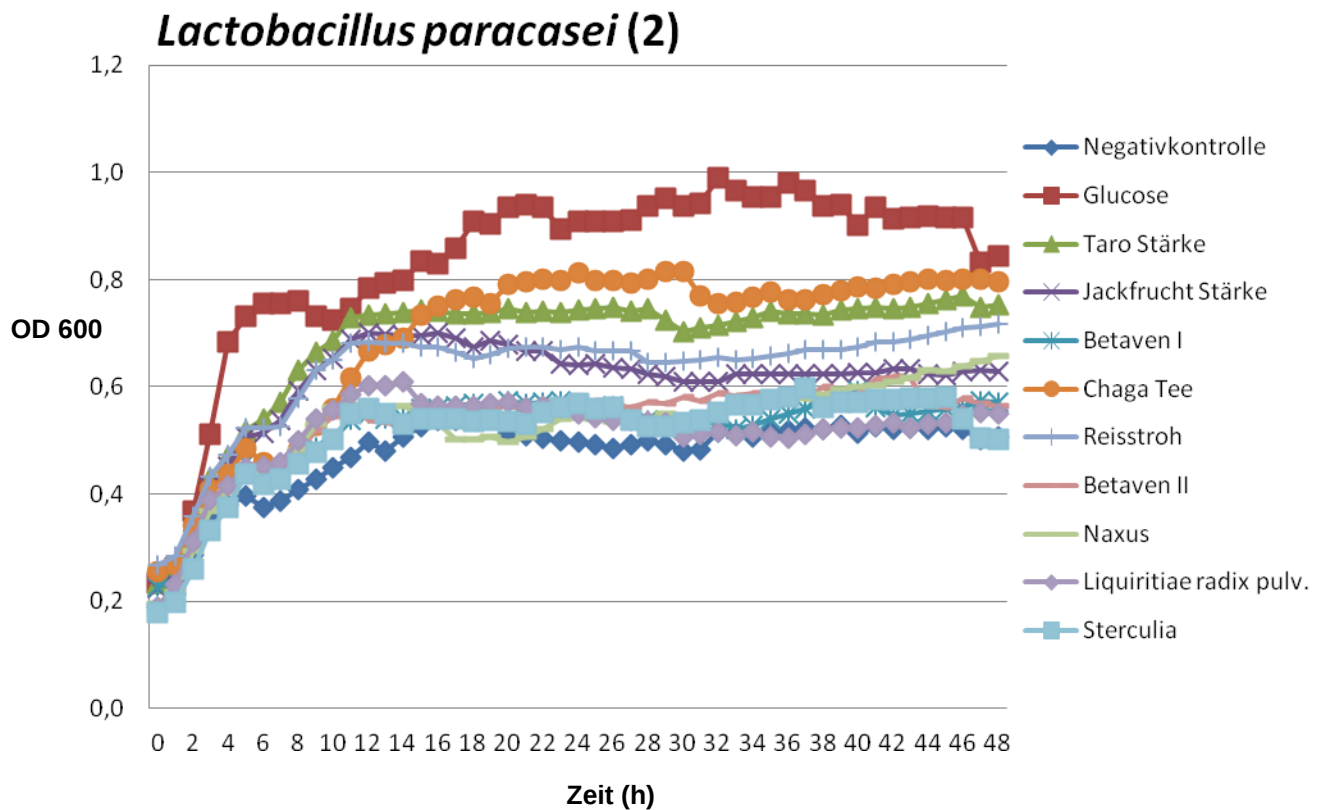


Abb.14. Wachstumskurven von *Lactobacillus paracasei* unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide (2)

In Abb.14. zeigt das beste Wachstum *Lactobacillus paracasei* unter dem Einfluss von Chaga Tee – Lösung, gefolgt von den Lösungen von Taro Stärke, Reisstroh und Jackfrucht Stärke. Die Wachstumskurven der übrigen Lösungen liegen knapp über der Negativkontrolle, sie beeinflussen das Wachstum von *Lactobacillus paracasei* nicht signifikant.

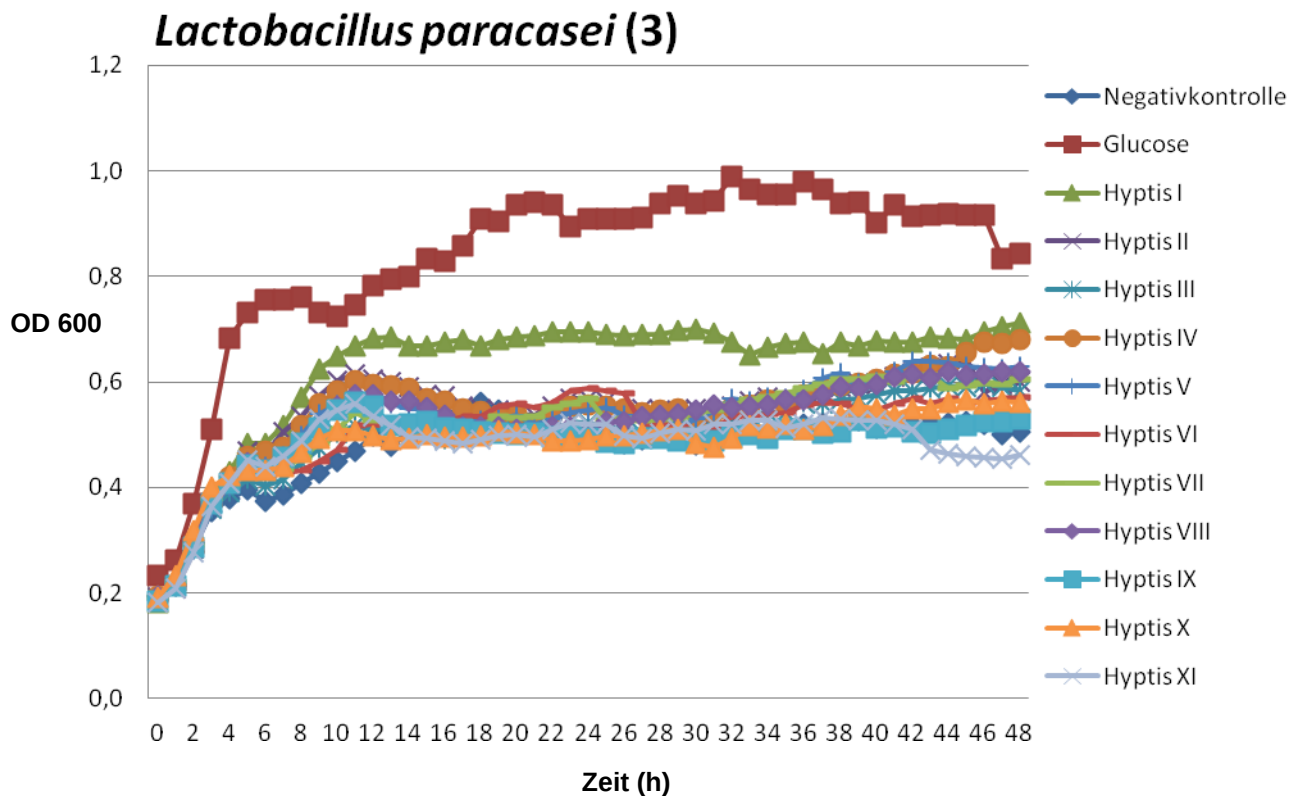


Abb.15. Wachstumskurven von *Lactobacillus paracasei* unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (3)

Das eindeutig beste Wachstum in Abb.15. zeigt *Lactobacillus paracasei* in Gegenwart der Zuckerlösung von Hyptis I. Dagegen sind die Proben von Hyptis IX und Hyptis X, sowie Hyptis XI als negativ in der Wachstumsbeeinflussung zu erachten. Die restlichen Proben von Hyptis suaveolens liegen innerhalb der Positivkontrolle und Negativkontrolle und zeigen somit positive Eigenschaften für das Wachstum von *Lactobacillus paracasei*.

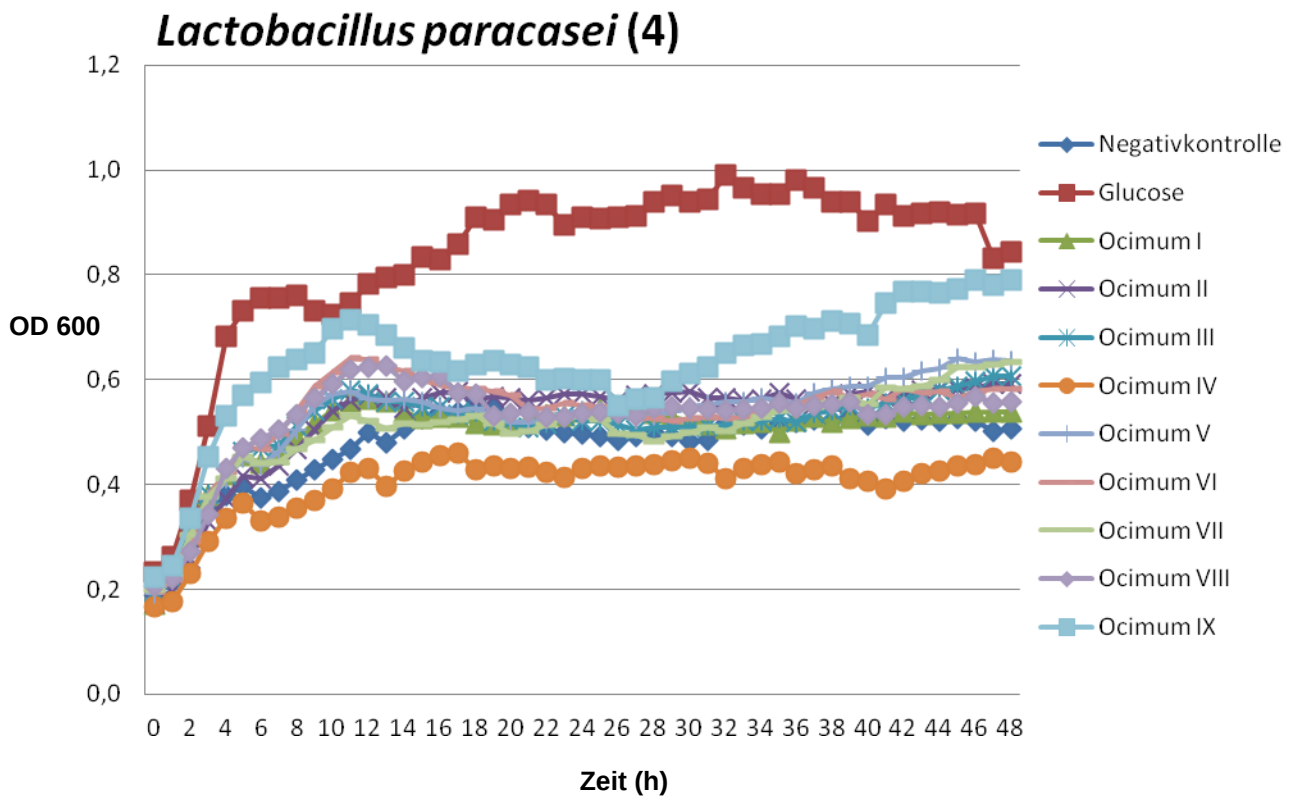


Abb.16. Wachstumskurven von *Lactobacillus paracasei* unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide (4)

In Abb.16. zeigt *Lactobacillus paracasei* das beste Wachstum in Gegenwart von Ocimum IX – Lösung. Ocimum IV hat keinen Einfluss auf die Zunahme der Zellzahl von *Lactobacillus paracasei*. Die restlichen Ocimum – Proben haben alle ungefähr dieselben positiven Eigenschaften betreffend der Einflussnahme auf das Wachstum dieser Bakterienkultur. Die Wachstumskurven dieser Zuckerlösungen liegen zwischen der Negativkontrolle und der Positivkontrolle und deuten somit auf eine Zellzunahme von *Lactobacillus paracasei* hin.

3.5. *Lactobacillus reuteri*

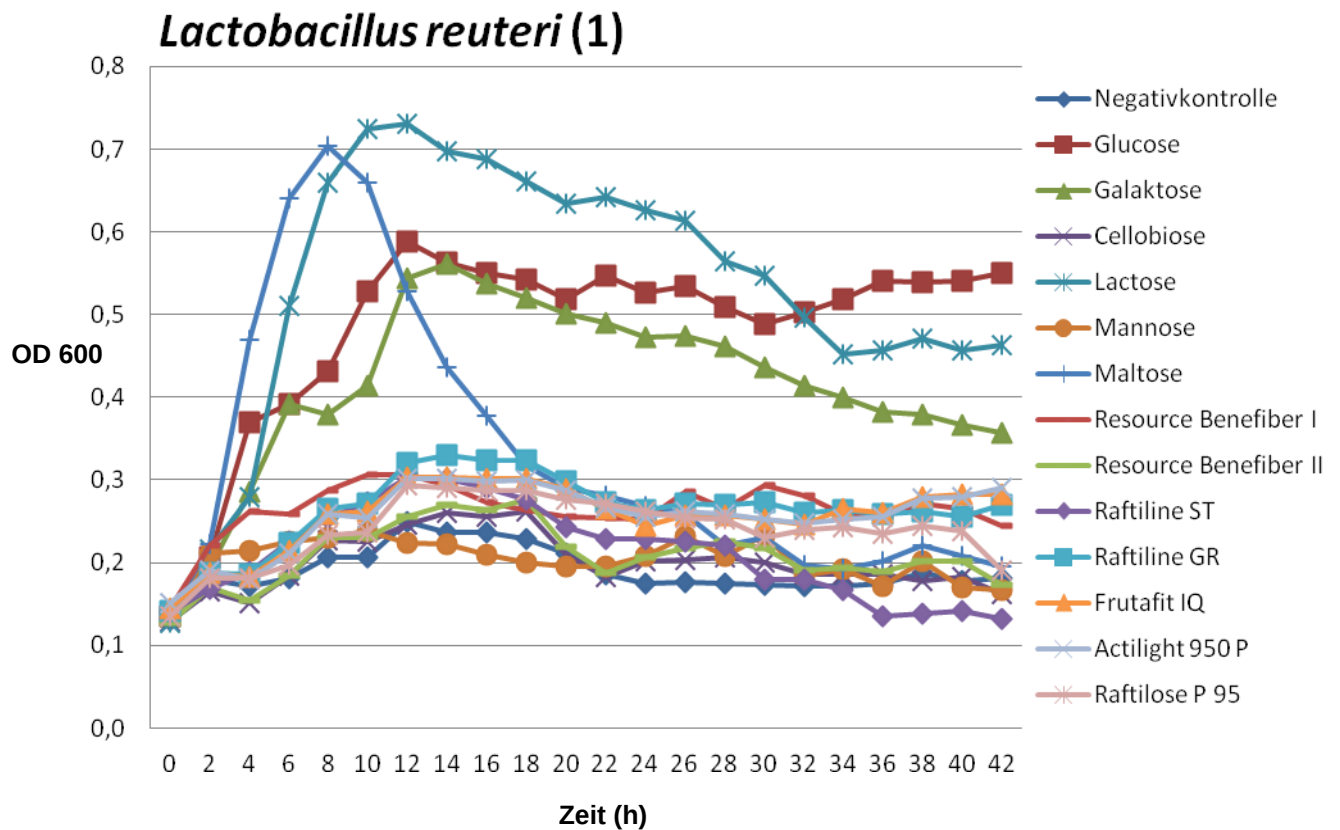


Abb.17. Wachstumskurven von *Lactobacillus reuteri* unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (1)

Die Wachstumskurven von *Lactobacillus reuteri* in Abb.17. zeigen, dass die Zellen in Lactose – und Maltoselösung das stärkste Wachstum haben, sogar höher als mit Glucose. Galaktose – Lösung liegt zwar unterhalb der Positivkontrolle, weist aber auch auf einen positiven Einfluss der Lösung auf die Zellen hin. Die übrigen Zuckerlösungen beeinflussen das Wachstum von *L.reuteri* nicht signifikant.

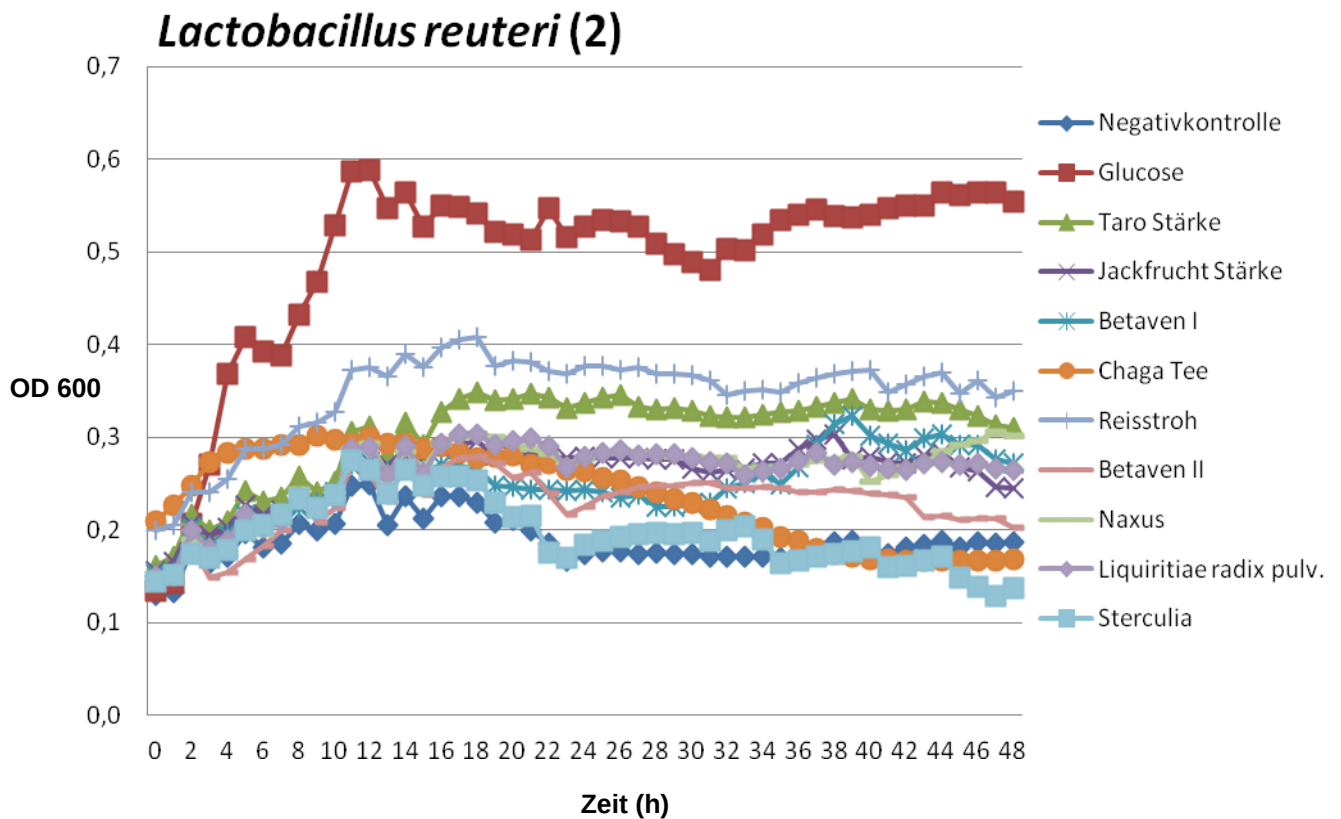


Abb.18. Wachstumskurven von *Lactobacillus reuteri* unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (2)

Deutlich unterhalb der Positivkontrolle aber dennoch den meisten Einfluss bei der Zellvermehrung von *Lactobacillus reuteri* hat die Lösung von Reisstroh in Abb.18. . Auch die Zuckerlösung der Probe Taro Stärke kann das Wachstum von *L.reuteri* positiv beeinflussen. In Gegenwart von Betaven I –, Jackfrucht Stärke –, Nexus –, Liquiritiae radix pulv.– und Betaven II – Lösung zeigen die Zellen ebenfalls eine Zunahme der Zellzahl. Die Chaga Tee – Wachstumskurve lässt zu Beginn einen leichten Anstieg erkennen. Auf Höhe der Negativkontrolle liegt die Lösung von Sterculia, weshalb diese als negativ zu betrachten ist.

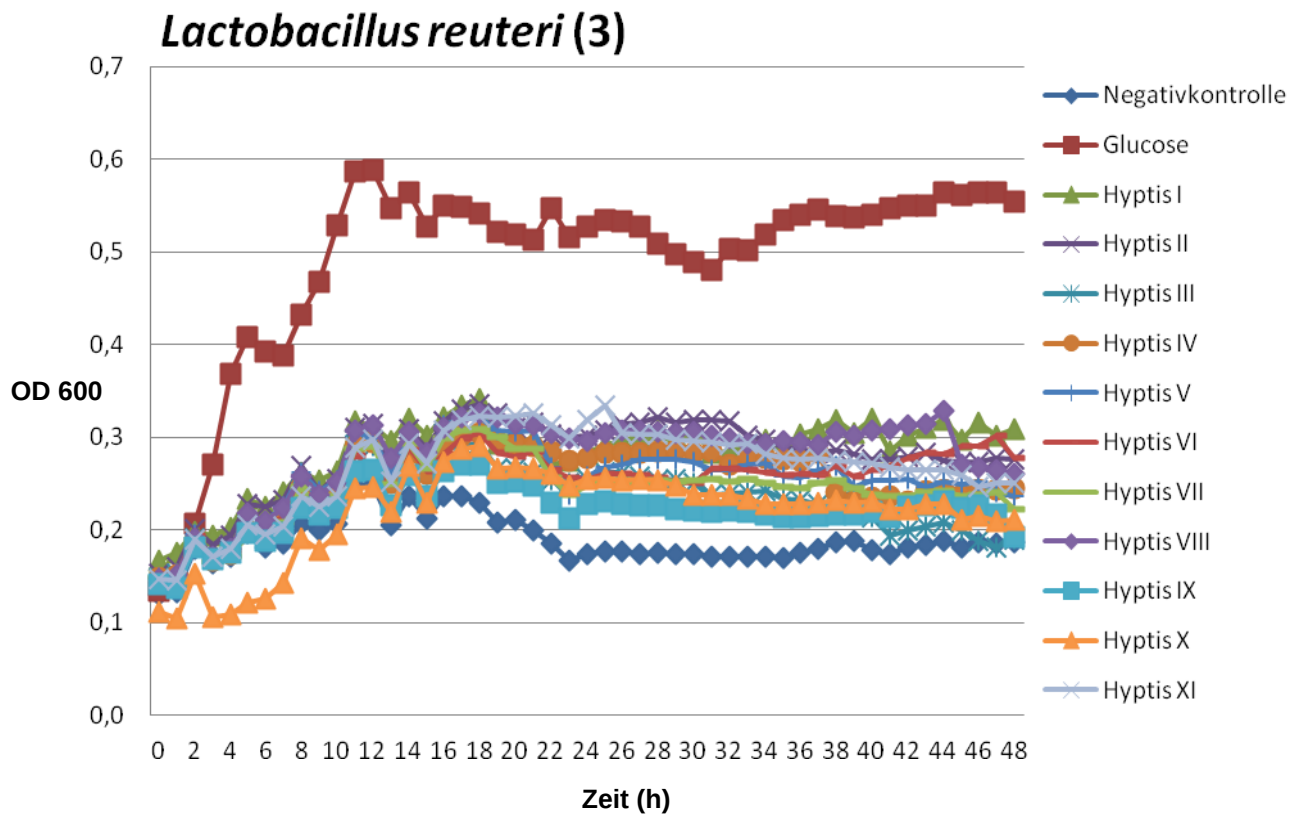


Abb.19. Wachstumskurven von *Lactobacillus reuteri* unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (3)

Lactobacillus reuteri zeigt in Abb.19. unter Einfluss aller Hyptis – Proben eine Zunahme des Wachstums, da alle Wachstumskurven innerhalb der Positivkontrolle und Negativkontrolle zu finden sind. Jedoch liegt die Positivkontrolle deutlich über den Proben mit den besten Eigenschaften zur Verbesserung des Wachstums von *L.reuteri*, nämlich jenen von Hyptis I, Hyptis II, Hyptis VI, Hyptis VIII und Hyptis XI.

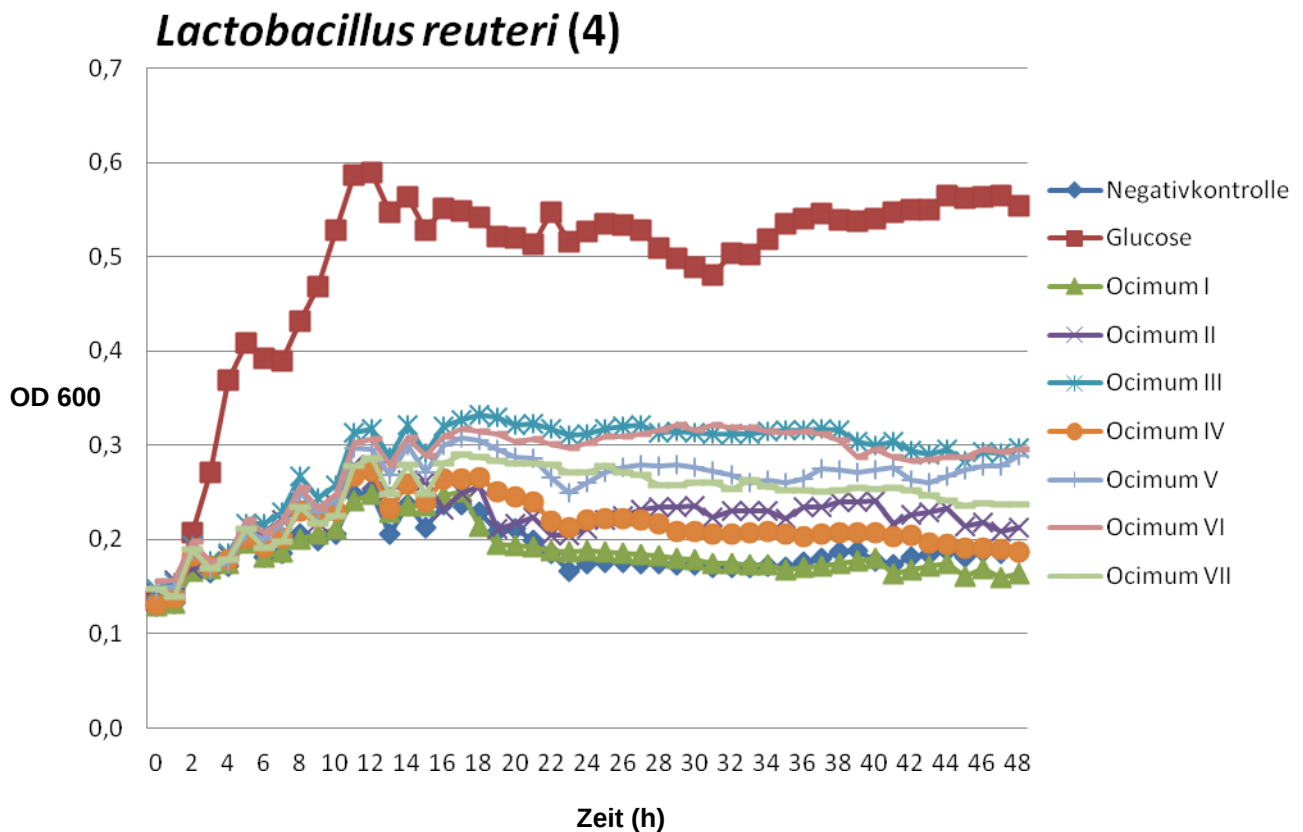


Abb.20. Wachstumskurven von *Lactobacillus reuteri* unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (4)

In Abb.20 sind bei der Kultur von *Lactobacillus reuteri* die besten Zuckerlösungen mit dem größten Einfluss auf das Wachstum Ocimum III und Ocimum VI. Die Proben von Ocimum V, Ocimum VII, Ocimum II und Ocimum IV haben ebenfalls Einfluss auf die Zellzunahme, dennoch liegen die Wachstumskurven aller Proben deutlich unterhalb der Positivkontrolle. Nur die Lösung von Ocimum I hat keine Bedeutung für die Zunahme der Zellzahl.

3.6. *Lactobacillus acidophilus*

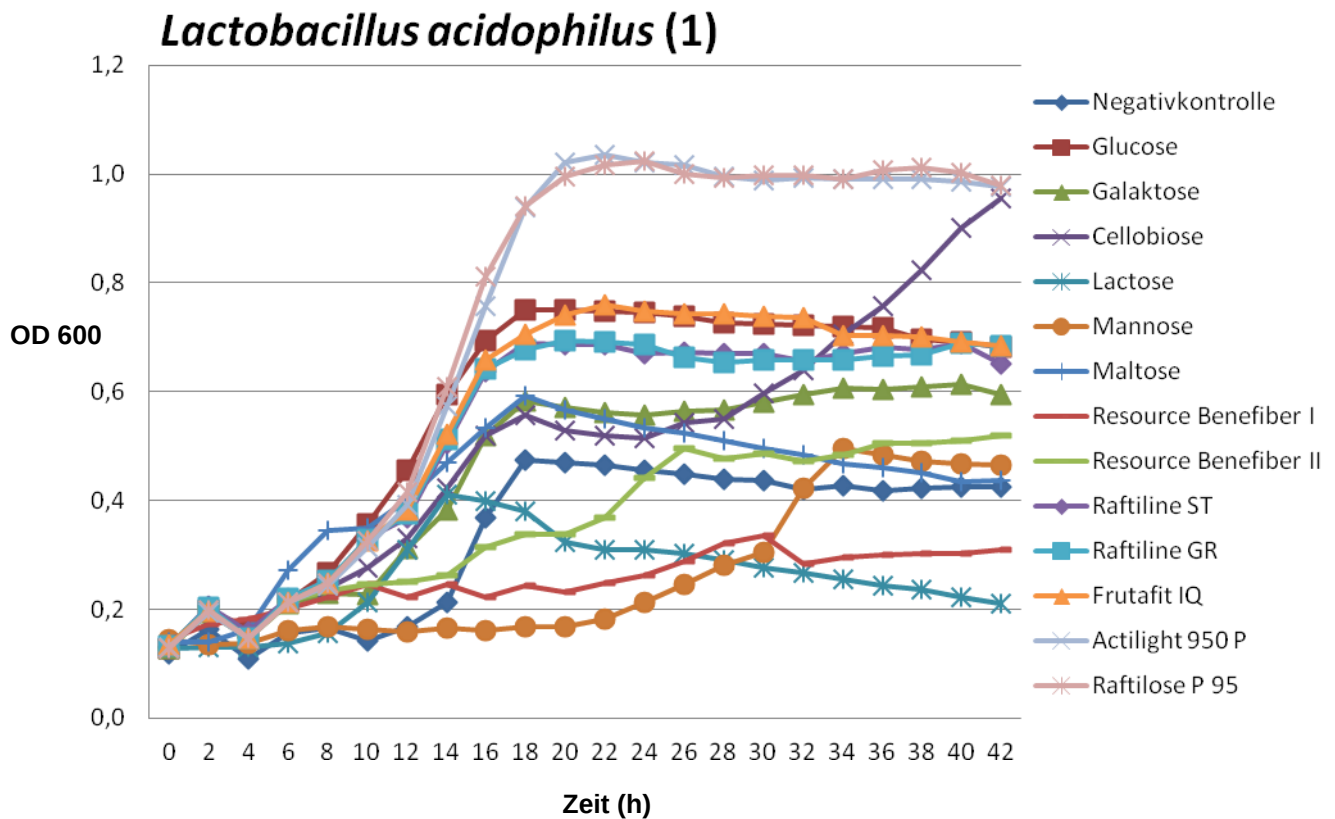


Abb.21. Wachstumskurven von *Lactobacillus acidophilus* unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (1)

Die Kultur *Lactobacillus acidophilus* zeigt in Abb.21. das beste Wachstum in Actilight 950 P –, sowie Raftilose P 95 – Lösung. Erst ab Stunde 26 nimmt was Wachstum von *Lactobacillus acidophilus* unter Einfluss von Cellobioselösung stark zu. Die Kurve von Frutafit IQ liegt auf genau derselben Höhe wie die Positivkontrolle, jene von Raftiline GR und Raftiline ST knapp darunter. Auffallend ist, dass die Wachstumskurven der Zellen in den Zuckerlösungen Resource Benefiber II und Mannose erst gegen Ende der Messungen einen leichten, aber nicht signifikanten Wachstumsanstieg zeigen. Lediglich die Zuckerlösungen von Lactose und Benefiber I scheinen keinen Einfluss auf das Wachstum von *Lactobacillus acidophilus* zu haben.

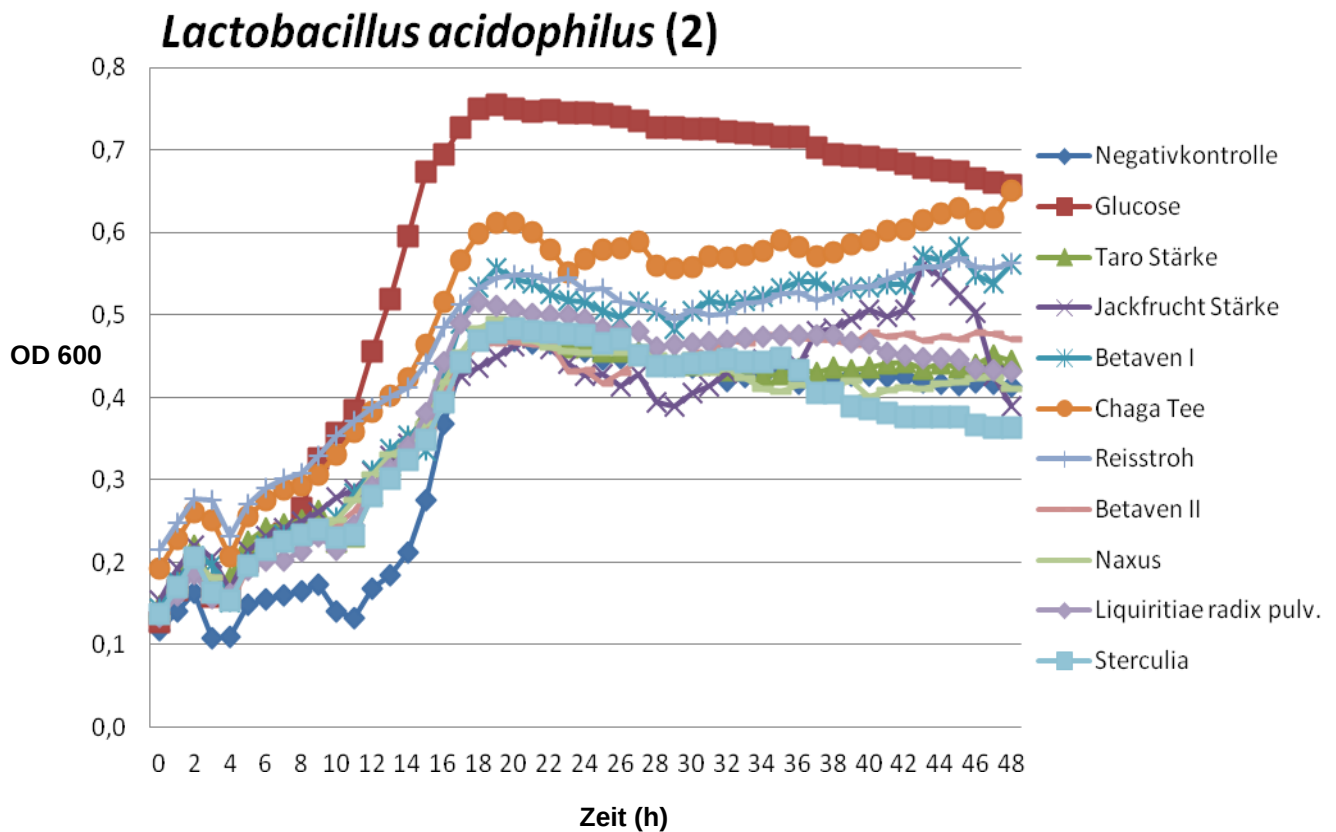


Abb.22. Wachstumskurven von *Lactobacillus acidophilus* unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (2)

Wie in Abb.22. erkennbar, zeigt die Wachstumskurve von *Lactobacillus acidophilus* in Chaga Tee – Lösung das beste Wachstum. Ähnlich in der Beeinflussung der Zellvermehrung sind die Lösungen der Proben Betaven I und Reisstroh.

Die Zellen scheinen unter Einfluss von Jackfrucht Stärke – Lösung kurzzeitig ein gutes Wachstum zu zeigen. In den Zuckerlösungen von Betaven II, Liquiritiae radix pulv. und Taro Stärke kommt es ebenfalls zu einer Vermehrung von *Lactobacillus acidophilus*.

Die Kurve von Nexus verläuft parallel zur Negativkontrolle, weshalb diese Probe als negativ zu bewerten ist.

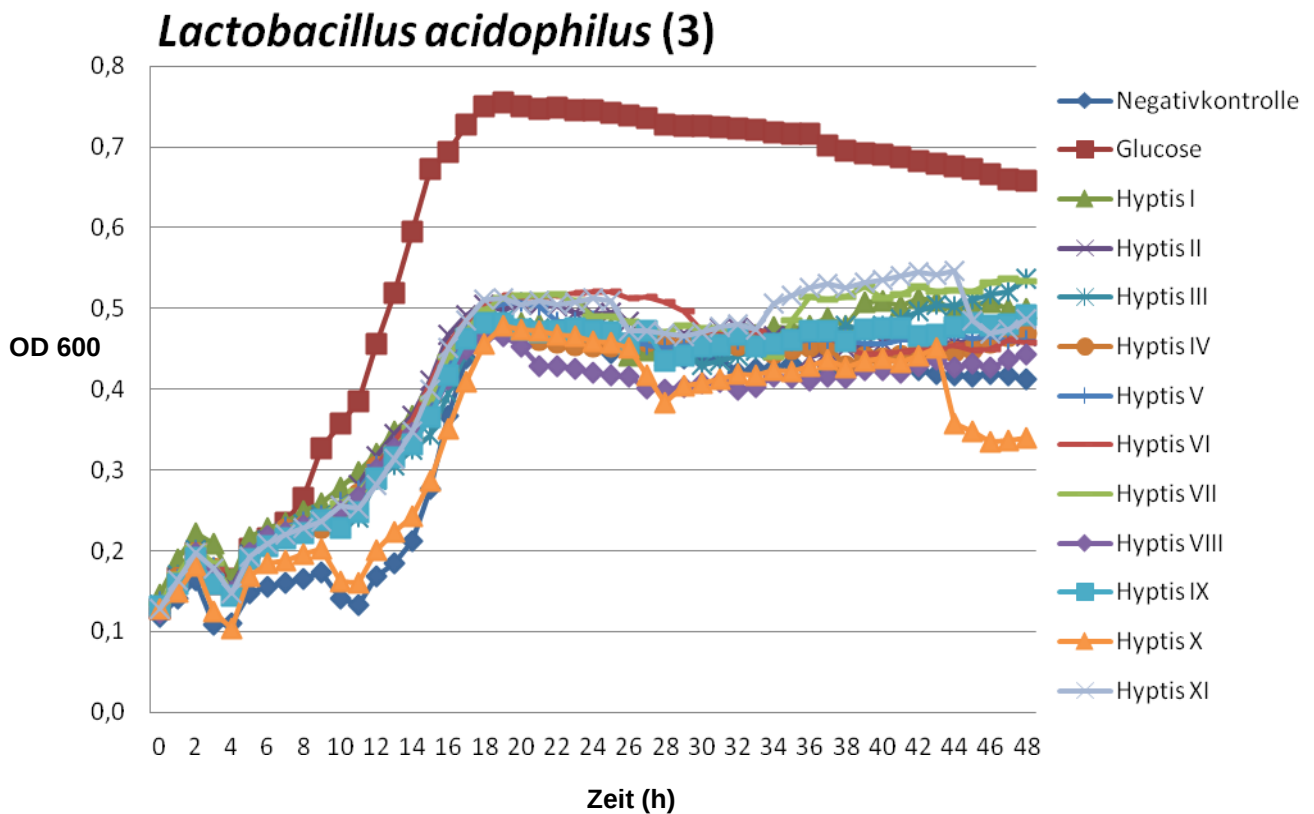


Abb.23. Wachstumskurven von *Lactobacillus acidophilus* unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (3)

Wie in Abb.23. erkennbar, ist bei der Kultur von *Lactobacillus acidophilus* keine klare Aussage über die eindeutig beste Hyptis – Probe möglich. Hier liegen alle Kurven sehr eng zusammen und deutlich unterhalb der Positivkontrolle. Dennoch kann man erkennen, dass sich die meisten Wachstumskurven über der Negativkontrolle befinden. Sowohl die Lösungen von Hyptis I, Hyptis III, Hyptis VI, Hyptis VII als auch Hyptis XI beeinflussen das Wachstum der Kultur in gleicher, positiver Weise. Die Zuckerlösungen von Hyptis VIII und Hyptis X jedoch sind als negativ zu bewerten.

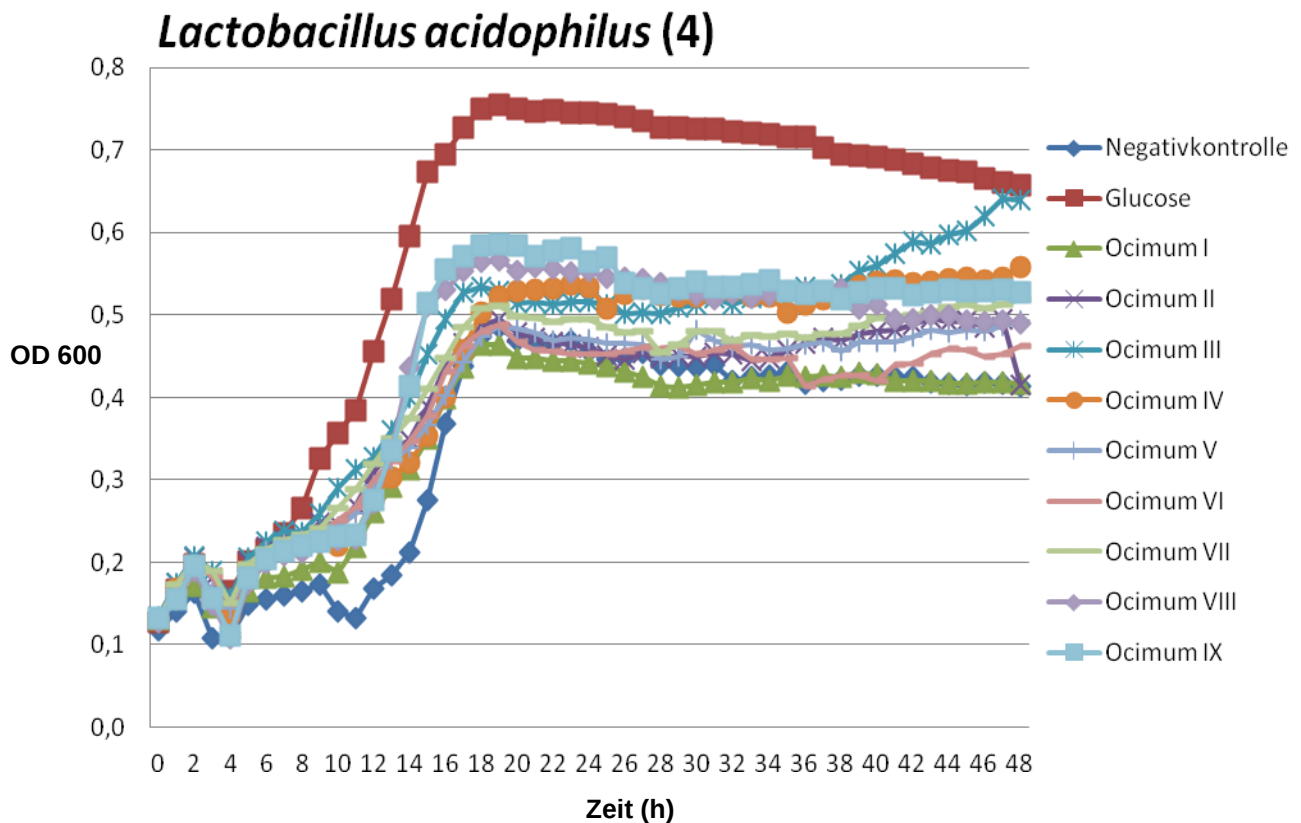


Abb.24. Wachstumskurven von *Lactobacillus acidophilus* unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (4)

Wie aus Abb.24. ersichtlich, zeigt *Lactobacillus acidophilus* in Anwesenheit von Ocimum III – Lösung, gefolgt von Ocimum IX –, Ocimum IV –, sowie Ocimum VIII – Lösung das beste Wachstum. Auch die Proben von Ocimum VII, Ocimum II und Ocimum V haben deutlichen Einfluss auf die Vermehrung der Zellen von *Lactobacillus acidophilus*. Ocimum I hat keinen nennenswerten Einfluss auf das Wachstum der Bakterienkultur.

3.7. *Bifidobacterium animalis ssp. lactis*

Zu Beginn der praktischen Arbeit wurde die Kultur von *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* (BB 12) in mehreren Durchgängen in 2 Mikrotiterplatten unter aeroben sowie anaeroben Bedingungen bebrütet.

Zuerst wurden mehrmals täglich im Laufe von 3 Tagen OD 600 – Messungen der aerob bebrüteten Kultur im Tecan – Spektralphotometer durchgeführt. Da auch nach dem 3. Durchgang keine Wachstumszunahme von BB 12 erkennbar war, wurde ein neuerlicher Versuch, diesmal mit Bebrüten unter anaeroben Bedingungen im Stickstoff – gefluteten – Inkubator, durchgeführt.

Wieder wurden täglich im Laufe von 3 Tagen OD 600 – Bestimmungen durchgeführt. Auch hier stellte sich das Wachstum der *Bifidobakterien* kaum ein, lediglich gegen Ende des 3. Tages nahm die Zellzahl von *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* geringfügig zu.

Um die Durchführung der angewandten Methode zu überprüfen, wurde beim nächsten Durchgang das Wachstum von 2 weiteren Kulturen, nämlich jenes von *Lactobacillus casei* sowie *Lactobacillus acidophilus*, von denen man wusste, dass sie sowohl unter aeroben als auch anaeroben Bedingungen gutes Wachstum zeigen, parallel zu BB 12 mitbestimmt. Dieses Mal wurden die Bakterien unter anaeroben Bedingungen im Inkubator bei 37°C 3 Tage lang bebrütet und einmal täglich eine OD 600 – Messung im Tecan – Spektralphotometer durchgeführt.

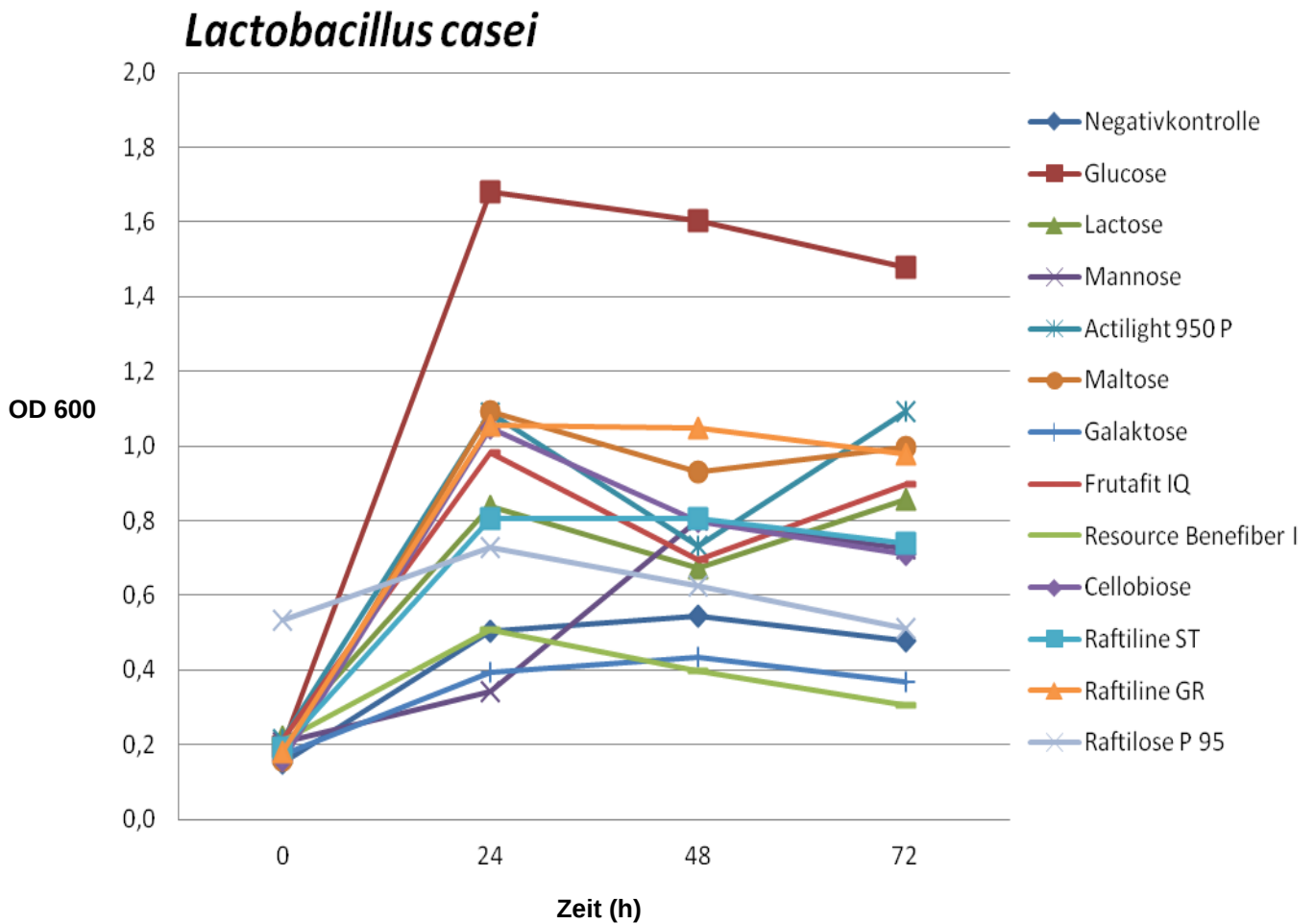


Abb. 25. Wachstumskurven von *Lactobacillus casei* unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide im Vergleich mit *Bifidobacterium animalis ssp. lactis*

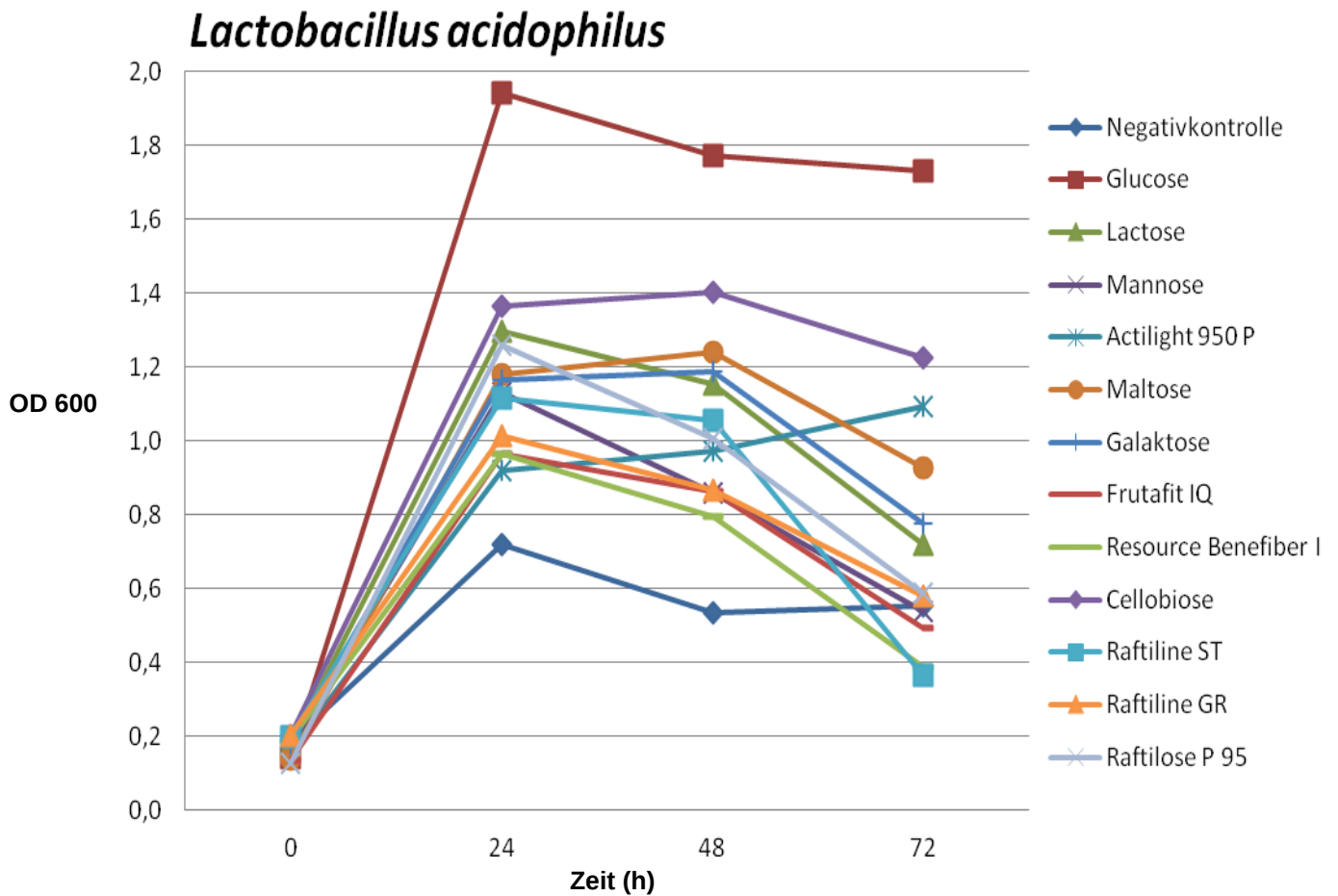


Abb. 26. Wachstumskurven von *Lactobacillus acidophilus* unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide im Vergleich mit *Bifidobacterium animalis ssp. lactis*

Sowohl die Kultur *Lactobacillus casei* als auch *Lactobacillus acidophilus* zeigten bis Ende des 1. Tages gutes und schnelles Wachstum, danach befanden sich die Zellen bereits wieder in der Absterbephase, wie man in Abb.25. und Abb.26. erkennen kann.

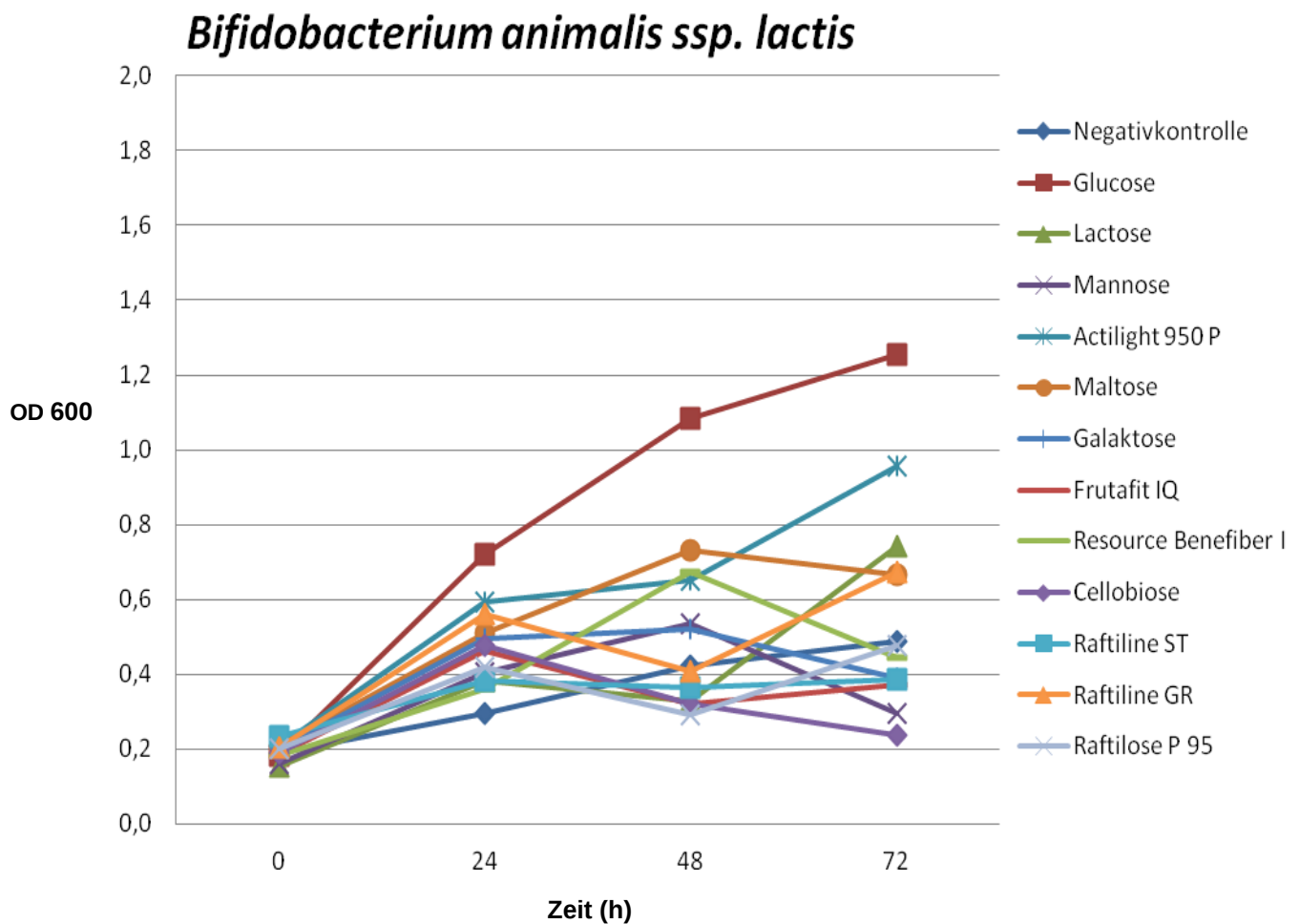


Abb. 27. Wachstumskurven von *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide

Bifidobacterium animalis ssp. lactis benötigte wesentlich länger, um ähnliche OD 600 – Werte wie die anderen beiden Kulturen zu erreichen. Am Ende des 1. Tages lagen die Messergebnisse nicht einmal halb so hoch wie jene von *Lactobacillus casei* und *Lactobacillus acidophilus*. Die Zellzahl von *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* nahm am 2. Tag deutlich zu und war gegen Ende des 3. Tages noch immer am Steigen. Die Kultur von *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* wurde dennoch für weitere Messungen mit den restlichen Zuckerlösungen ausgeschlossen, da eine anaerobe Inkubation von BB 12 im Bioscreen C – Messgerät unmöglich gewesen wäre.

4. Diskussion

Wie bereits erwähnt, sind die mit dem Bioscreen C – Messgerät und dem Tecan – Spektralphotometer durchgeführten Messungen Trübungsmessungen. Die Trübung steigt mit der Zellzahl, wodurch das Zellwachstum gemessen werden kann.

Bei den Versuchen wurden Bakterienkulturen in MRS- – Medium mit Zuckerlösungen in ausgewählten Konzentrationen zusammenpipettiert und bei 37 °C unter aeroben Bedingungen bebrütet. In zuvor bestimmten Zeitabständen wurden die Messungen der optischen Dichte bei 600 nm durchgeführt und so die Zunahme der Trübung in den einzelnen Wells der Mikrotiterplatten gemessen.

Die OD 600 – Messungen mit dem Bioscreen C – Messegerät sowie mit dem Spektralphotometer (Tecan) zeigen eine klare Zunahme der Trübung der Bakterienkulturen in Kombination mit den ausgewählten Zuckerlösungen.

Wie in Abb.1. bis Abb. 24. aus Kapitel 3 ersichtlich, übt Cellobiose den größten, positiven Einfluss auf das Wachstum der ausgewählten Bakterienstämme aus. Die Proben Mannose und Maltose liegen mit ihren Wachstumskurven bei den meisten der Bakterienkulturen auch über den durchschnittlichen Werten. Lactose und die Fructane der Polysaccharidproben Raftiline GR und Raftiline ST lassen die Kurven ebenso ansteigen, wie die Fructooligosaccharide der Proben Raftilose P 95 und Actilight 950 P (Tabelle 1, Kapitel 2.2.).

Reisstroh hat einen großen Einfluss auf das Wachstum der Bakterienkulturen. Jede einzelne der 6 Kulturen spricht mit einem erhöhten Wachstum auf die Gegenwart der β – Glucan – Zuckerlösung an. Auch die Versuche mit Chaga Tee in Kombination mit den Bakterienzellen zeigen deutliche Erfolge. Unterschiedlich starken, aber dennoch nennbaren Einfluss auf die Vermehrung der Zellen haben die Proben Taro Stärke, Jackfrucht Stärke und Betaven I (Tabelle 1, Kapitel 2.2.).

Die Zellen aller Bakterienstämme werden am häufigsten von Probe Hyptis I (Tabelle 1, Kapitel 2.2.) zur Vermehrung angeregt, dicht gefolgt von Hyptis XI. Weiters leisten auch die Polysaccharidproben Hyptis II und Hyptis V (Tabelle 1, Kapitel 2.2.) einen deutlichen Beitrag zur Erhöhung der Zellzahl.

Ocimum III hat die meiste Beteiligung am Wachstum aller 6 Bakterienstämme, gefolgt von den Proben Ocimum VII und Ocimum VI (Tabelle 1, Kapitel 2.2.). Auch erkennbaren, positiven Einfluss auf das Wachstum der Zellen liefern Ocimum II, Ocimum VIII und Ocimum VIII (Tabelle 1, Kapitel 2.2.). Diese Proben erhöhen zwar nicht bei jeder einzelnen, aber dennoch bei den meisten der 6 Bakterienkulturen die Zellteilungsrate.

Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass die Wachstumskurven der OD 600 – Messungen auf eine Vermehrung der Zellzahl hindeuten. Dies jedoch ist nicht zu 100% sicher, da eine Zunahme der Trübung auch bedeuten kann, dass sich in den Bakterien – Zuckerlösungen – Suspensionen andere chemische Prozesse ereignet haben und so eine Trübung ergeben, die fälschlicherweise als zunehmendes Wachstum der Bakterienkultur verstanden werden kann.

Womöglich wurden im Laufe der Kultivierung die Löslichkeit der Oligo – und Polysaccharide verringert und dadurch ergab sich eine Trübung der Suspensionen.

Eine weitere Möglichkeit wäre, dass die Zuckerlösungen tatsächlich von den Zellen verwertet wurden, jedoch die entstandenen Abbauprodukte der Zucker eine stärkere Trübung als die sich – vermehrenden Bakterien selbst lieferten.

Um eine Fehlinterpretation auszuschließen und eine Aussage über die tatsächliche Erhöhung der Zellzahl zu erhalten, ist die Ermittlung der Bakterienzahl mittels Keimzahlbestimmung eine gute und aussagekräftige Methode, die während der praktischen Arbeit aber aus zeitlichen Gründen nicht durchgeführt wurde.

Auch wenn der Stamm für die Versuchsreihe ausgeschlossen wurde, sollte *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* in zukünftigen Untersuchungen miteinbezogen werden. Da die genau definierten Bedingungen der durchgeführten Messungen nicht speziell für den *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* – Stamm ausgeweitet wurden, ist deshalb nicht klar, ob die Zellen unter Einfluss der getesteten Oligo- und Polysaccharidproben gutes Wachstum gezeigt hätten.

Dabei sollte man auch in Betracht ziehen, dass die getesteten Stämme anaerobe Milchsäurebakterien sind. Von den getesteten Bakterienkulturen zeigen die meisten zwar auch im aeroben Milieu ein gutes Wachstum, jedoch ist ihre Vermehrungsrate in

anaerober Umgebung viel höher. Bei zukünftigen Tests sollte man versuchen, die Stämme im aeroben als auch anaeroben Milieu zu kultivieren.

Eine weitere Überlegung wäre es, verschiedene Kombinationen von Bakterienstämmen in den oben erwähnten Zuckerlösungen zu testen. Dies dient dazu um herauszufinden, ob sich die Kulturen eventuell in ihren Eigenschaften positiv ergänzen und ein höheres Wachstum aufweisen als in Monokulturen oder ob sie sich gegenseitig die Nahrungsquellen entziehen und so eine verfrühte Absterbephase aller beteiligten Stämme hervorrufen.

Ebenfalls könnte auch der Einfluss verschiedener Kombinationen von Zuckerlösungen auf die Bakterienstämme getestet werden. Womöglich liefern die Ergebnisse der Tests mit Monokulturen sowie mehrerer kombinierten Bakterienstämme interessante neue Erkenntnisse über das Wachstum und den Einfluss von Präbiotika und Probiotika im Speziellen.

Auch hier wäre es empfehlenswert sowohl Trübungsmessungen als auch Keimzahlbestimmungen durchzuführen, um klare Aussagen über den Einfluss spezieller Präbiotika auf einzelne als auch kombinierte Probiotika zu erhalten.

5. Zusammenfassung

Das Wachstum der Bakterienkulturen *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus reuteri* und *Lactobacillus acidophilus* unter Einfluss ausgewählter Oligo- und Polysaccharidproben wurde in mehrmals durchgeführten Messvorgängen bestätigt. Auch wurde die Reproduzierbarkeit der Messergebnisse sowie der Methode bewiesen. Es wurde gezeigt, dass einige der getesteten Oligo- und Polysaccharidproben das Wachstum der 6 Kulturen in positiver Weise beeinflussen. Die Lösungen der Proben von Cellobiose (Disaccharid), Reisstroh (β -Glucan), Chaga Tee (β -Glucan), Hyptis I (Heteropolysaccharide), Hyptis XI (Oligosaccharide) und Ocimum III (Polysaccharide) hatten in mehrmals durchgeführten Trübungsmessungen den meisten Einfluss auf die Bakterienkulturen.

Nur einige wenige Zuckerausgangsverbindungen haben keine Bedeutung für Zellvermehrung und sind deshalb für weitere Tests mit den oben erwähnten Bakterienstämmen auszuschließen.

Der Stamm *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* wurde von den Versuchen ausgeschlossen, da er auch nach mehrmaligen Testmessungen unter aeroben Bedingungen keinen wirklichen Fortschritt im Wachstum zeigte.

Um eine genaue Aussage über den Einfluss der getesteten, besten Präbiotika auf die genannten Bakterienzellen treffen zu können, sind weitere Untersuchungen wie Keimzahlbestimmungen nötig.

Literaturverzeichnis

- [1] <http://www.agev.net/tagung2003/BFEL1.pdf>,
Berichte der Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel,
Functional Food – Forschung, Entwicklung und Verbraucherakzeptanz, Band 1
25. Wissenschaftliche Jahrestagung der AGEV , 23. – 24. Mai in Giessen
in Kooperation mit dem Institut für Ernährungswissenschaft der Justus-Liebig-
Universität anlässlich der Feierlichkeiten zum 200. Geburtstag von Justus Liebig,
Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel, *Karlsruhe 2005*, 1:5-16
- [2] <http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syokuanzen/hokenkinou/hyouziseido-1.html>
- [3] http://www.bfr.bund.de/de/gesundheitsliche_bewertung_von_nahrungsergaenzungsmitteln-945.html, Gesundheitliche Bewertung von Nahrungsergänzungsmitteln
- [4] <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31997R0258:de:HTML>
31997R0258, Verordnung (EG) Nr. 258/97 des Europäischen Parlaments und des Rates
vom 27. Januar 1997 über neuartige Lebensmittel und neuartige Lebensmittelzutaten -
Amtsblatt Nr. L 043 vom 14/02/1997 S.0001-0006
- [5] Sven – David Müller – Nothmann. Handbuch der Vitalstoffe - Vitamine, Mineralstoffe
& Co, Ihre Bedeutung in der Ernährung, *Neomedia Verlag, 1.Auflage 2007, 2007*
Pausmedien Coesfeld, p.60-65
- [6] Rimbach G., Möhring J., Erbersdobler H.F. Lebensmittelwarenkunde für Einsteiger,
Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2010, p.371-375
- [7] Roberfroid M., Gibson G.R., Hoyles L., McCartney A.L., Rastall R., Rowland I.,
Wolters D., Watzl B., Szajewska H., Stahl B., Guarner F., Respondek F., Whelan K.,
Coxam V., Davicco M.J., Léotoing L., Wittrant Y., Delzenne N.M., Cani P.D., Neyrinck
A.M., Meheust A. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. *Br J Nutr* 2010,
104 (2):1-63

- [8] de Vrese M., Schrezenmeir J. Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2008, 111:1-66
- [9] Bischoff S. C. Probiotika, Präbiotika und Synbiotika, *Georg Thieme Verlag KG* 2009, p.60-91
- [10] Mugambi M. N., Musekiwa A., Lombard M., Young T., Blaauw R. Probiotics, prebiotics infant formula use in preterm or low birth weight infants: a systematic review. *Nutr J* 2012, 11(58):2
- [11] Schulze J. / Sonnenborn U. , Ölschläger T. / Kruis W. Probiotika – Mikroökologie, Mikrobiologie, Qualität, Sicherheit und gesundheitliche Effekte, *Hippokrates Verlag Stuttgart* 2008, p.41-160
- [12] Femia A.P., Luceri C., Dolaro P., Giannini A., Biggeri A., Salvadori M., Clune Y., Collins K.J., Paglierani M., Caderni G. Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. *Oxford J Carcinogen Florence* 2002, 23(11):1953-1960
- [13] Pschyrembel – Klinisches Wörterbuch, 260. Auflage, *Walter de Gruyter, Berlin – New York* 2005, p.221,998
- [14] Hunnius – Pharmazeutisches Wörterbuch , 10. Auflage, *herausgegeben von Hermann P.T.Ammon, Walter de Gruyter, Berlin – New York* 2010, p.1110
- [15] Prof.Dr.Volker Krömker. Kurzes Lehrbuch Milchkunde und Milchhygiene, *MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH & Co.KG, Parey Verlag* 2007, p.121-167
- [16] Avlami A., Kordossis T., Vrizidis N., Sipsas N.V. *Lactobacillus rhamnosus* endocarditis complicating colonoscopy. *J Infect* 2001, 42(4):283-285

- [17] Morita H., Toh H., Oshima K., Murakami M., Taylor T.D., Igimi S., Hattori M. Complete Genome Sequence of the Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103. *J Bacteriol* 2009, 191(24):7630-7631
- [18] Borriello S.P., Hammes W.P., Holzapfel W., Marteau P., Schrezenmeir J., Vaara M., Valtonen V. Safety of probiotics that contain *lactobacilli* or *bifidobacteria*. *Oxford J Med/Clin Infect Dis* 2003, 36(6):775-780
- [19] Wong S.S., Quan Toh Z., Dunne E.M., Mulholland E.K., Tang M.L., Robins-Browne R.M., Licciardi P.V., Satzke C. Inhibition of *Streptococcus pneumoniae* adherence to human epithelial cells in vitro by the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG. *BMC Res Notes* 2013, 6:135
- [20] Sawada J., Morita H., Tanaka A., Salminen S., He F., Matsuda H. Ingestion of heat-treated *Lactobacillus rhamnosus* GG prevents development of atopic dermatitis in NC/Nga mice. *Clin Exp Allergy* 2007, 37(2):296-303
- [21] Gorbach Sherwood L., Goldin Barry R. US4839281 (A) - *Lactobacillus* strains and methods of selection. *US Patent (US4839281 A)*, 1989
- [22] Näse L., Hatakka K., Savilahti E., Saxelin M., Pönkä A., Poussa T., Korpela R., Meurman J.H. Effect of Long-Term Consumption of a Probiotic Bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in Milk on Dental Caries and Caries Risk in Children. *Caries Res* 2001, 35(6):412-420
- [23] Armuzzi A., Cremonini F., Ojetto V., Bartolozzi F., Canducci F., Candelli M., Santarelli L., Cammarota G., De Lorenzo A., Pola P., Gasbarrini G., Gasbarrini A. Effect of *Lactobacillus* GG supplementation on antibiotic-associated gastrointestinal side effects during *Helicobacter pylori* eradication therapy: a pilot study. *Digestion* 2001, 63(1):1-7
- [24] Thomas Debra L., Buck Rachael H. CN102985105 (A) - Nutritional Formulas Containing Synbiotics. *CN Patent (CN102985105)*, 2011

- [25] Yuan Kun Lee, Seppo Salminen. Handbook of Probiotics and Prebiotics – Second Edition, A John Wiley & Sons, Inc. Publication, Hoboken, New Jersey 2009, p.462-468
- [26] Collins M.D., Phillips B.A., Zannoni P. Deoxyribonucleic Acid Homology Studies of *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* sp. nov., subsp. *paracasei* and subsp. *tolerans*, and *Lactobacillus rhamnosus* sp. nov., comb. nov. *Int J of System Bact* 1989, 105-108
- [27] Marsh P., Martin M.V., übersetzt von Angelika S.Callaway, Orale Mikrobiologie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2003, p.30
- [28] Lund B., Baird-Parker T.C., Warwick Gould G. The Microbiological Safety and Quality of Food – Volume I, An Aspen Publication, Maryland, United States of America 2000, p.541
- [29] Liévin-Le Moal V., Fayol-Messaoudi D., Servin A.L. Compound(s) secreted by *Lactobacillus casei* strain Shirota YIT9029 irreversibly and reversibly impair the swimming motility of *Helicobacter pylori* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, respectively. *Microbiology* 2013, in press
- [30] Chuang L.C., Huang C.S., Ou-Yang L.W., Lin S.Y. Probiotic *Lactobacillus paracasei* effect on cariogenic bacterial flora. *Clin Oral Investig* 2011, 15(4):471-476
- [31] Buriti F.C., Cardarelli H.R., Saad S.M. Biopreservation by *Lactobacillus paracasei* in coculture with *Streptococcus thermophilus* in potentially probiotic and synbiotic fresh cream cheeses. *J Food Prot* 2007, 70(1):228-235
- [32] Tanzer J.M., Thompson A., Lang C., Cooper B., Hareng L., Gamer A., Reindl A., Pompejus M. Caries inhibition by and safety of *Lactobacillus paracasei* DSMZ16671. *J Dent Res* 2010, 89(9):921-926

- [33] Lang C., Böttner M., Holz C., Veen M., Ryser M., Reindl A., Pompejus M., Tanzer J.M. Specific *Lactobacillus/Mutans Streptococcus* co-aggregation. *J Dent Res* 2010, 89(2):175-179
- [34] Twetman L., Larsen U., Fiehn N.E., Stecksén-Blicks C., Twetman S. Coaggregation between probiotic bacteria and caries-associated strains: an in vitro study. *Acta Odontol Scand* 2009, 67(5):284-288
- [35] Caridi A. Selection of Escherichia coli-inhibiting strains of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*. *J Ind Microbiol Biotechnol* 2002, 29(6):303-308
- [36] Aleljung P., Fonden R., Svensson U., Wadstroem T. EP 1036160B1 - Strain of bacteria of the species *lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, composition thereof for use in food and product containing said strain. *EP Patent (EP1036160 B1)*, 1999
- [37] Aronsson L., Huang Y., Parini P., Korach-André M., Håkansson J., Gustafsson J.Å., Pettersson S., Arulampalam V., Rafter J. Decreased fat storage by *Lactobacillus paracasei* is associated with increased levels of angiopoietin-like 4 protein (ANGPTL4). *PLoS One* 2010, 5(9):e13087
- [38] Bonavida B., Postaire E. DE60121327 (T2) - Use of *Lactobacillus casei* in immunostimulatory peptides. *DE Patent (DE60121327 T2)*, 2007
- [39] De Preter V., Raemen H., Cloetens L., Houben E., Rutgeerts P., Verbeke K. Effect of dietary intervention with different pre- and probiotics on intestinal bacterial enzyme activities. *Eur J Clin Nutr* 2008, 62(2):225-231
- [40] Chmielewska A., Szajewska H. Systematic review of randomised controlled trials: probiotics for functional constipation. *World J Gastroenterol* 2010, 16(1):69-75
- [41] Agarwal K.N., Bhasin S.K. Feasibility studies to control acute diarrhoea in children by feeding fermented milk preparations Actimel and Indian Dahi. *Eur J Clin Nutr* 2002, 56(4):56-59

- [42] Yonekura S., Okamoto Y., Okawa T., Hisamitsu M., Chazono H., Kobayashi K., Sakurai D., Horiguchi S., Hanazawa T. Effects of daily intake of *Lactobacillus paracasei* strain KW3110 on Japanese cedar pollinosis. *Allergy Asthma Proc* 2009, 30(4):397-405
- [43] Schabussova I., Hufnagl K., Tang M.L., Hoflehner E., Wagner A., Loupal G., Nutton S., Zuercher A., Mercenier A., Wiedermann U. Perinatal maternal administration of *Lactobacillus paracasei* NCC 2461 prevents allergic inflammation in a mouse model of birch pollen allergy. *PLoS One* 2012, 7(7):e40271
- [44] Forsberg A., Abrahamsson T.R., Björkstén B., Jenmalm M.C. Pre- and post-natal *Lactobacillus reuteri* supplementation decreases allergen responsiveness in infancy. *Clin Exp Allergy* 2013, 43(4):434-442
- [45] Krasse P., Carlsson B., Dahl C., Paulsson A., Nilsson A., Sinkiewicz G. Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Swed Dent J* 2006, 30(2):55-60
- [46] Martinez R.C., Franceschini S.A., Patta M.C., Quintana S.M., Gomes B.C., De Martinis E.C., Reid G. Improved cure of bacterial vaginosis with single dose of tinidazole (2 g), *Lactobacillus rhamnosus* GR-1, and *Lactobacillus reuteri* RC-14: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Can J Microbiol* 2009, 55(2):133-138
- [47] Vujic G., Jajac Knez A., Despot Stefanovic V., Kuzmic Vrbancic V. Efficacy of orally applied probiotic capsules for bacterial vaginosis and other vaginal infections: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013, 168(1):75-79
- [48] Abrahamsson T.R., Sinkiewicz G., Jakobsson T., Fredrikson M., Björkstén B. Probiotic lactobacilli in breast milk and infant stool in relation to oral intake during the first year of life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009, 49(3):349-354
- [49] Weizman Z., Asli G., Alsheikh A. Effect of a probiotic infant formula on infections in child care centers: comparison of two probiotic agents. *Pediatrics* 2005, 115(1):5-9

- [50] Imase K., Tanaka A., Tokunaga K., Sugano H., Ishida H., Takahashi S. *Lactobacillus reuteri* tablets suppress *Helicobacter pylori* infection--a double-blind randomised placebo-controlled cross-over clinical study. *Kansenshogaku Zasshi* 2007, 81(4):387-393
- [51] Chitapanarux I., Chitapanarux T., Traisathit P., Kudumpee S., Tharavichitkul E., Lorvidhaya V. Randomized controlled trial of live *Lactobacillus acidophilus* plus *Bifidobacterium bifidum* in prophylaxis of diarrhea during radiotherapy in cervical cancer patients. *Radiat Oncol* 2010, 5:31
- [52] Anderson J.W., Gilliland S.E. Effect of fermented milk (yogurt) containing *Lactobacillus acidophilus* L1 on serum cholesterol in hypercholesterolemic humans. *J Am Coll Nutr* 1999, 18(1):43-50
- [53] Sullivan A., Nord C.E., Evengård B. Effect of supplement with lactic-acid producing bacteria on fatigue and physical activity in patients with chronic fatigue syndrome. *Nutr J* 2009, 8:4
- [54] Doder R., Kovacević N., Munćan D., Potkonjak A., Tomasev B., Ruzić M. Outcomes of *Clostridium difficile* enterocolitis after administration of antibiotics along with probiotic supplement. *Med Pregl* 2013, 66(5-6):209-213
- [55] Goto H., Sagitani A., Ashida N., Kato S., Hirota T., Shinoda T., Yamamoto N. Anti-influenza virus effects of both live and non-live *Lactobacillus acidophilus* L-92 accompanied by the activation of innate immunity. *Br J Nutr* 2013, 18:1-9
- [56] Holscher H.D., Czerkies L.A., Cekola P., Litov R., Benbow M., Santema S., Alexander D.D., Perez V., Sun S., Saavedra J.M., Tappenden K.A. *Bifidobacterium lactis* Bb12 enhances intestinal antibody response in formula-fed infants: a randomized, double-blind, controlled trial. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2012, 36(1):106-117
- [57] Tamime A. Y. Probiotic Dairy Products - Society of dairy technology (SDT), Blackwell Publishing Ltd 2005, p.40-53

- [58] Bordoni A., Amaretti A., Leonardi A., Boschetti E., Danesi F., Matteuzzi D., Roncaglia L., Raimondi S., Rossi M. Cholesterol-lowering probiotics: in vitro selection and in vivo testing of bifidobacteria. *Appl Microbiol Biotechnol* 2013, *in press*
- [59] Taipale T., Pienihäkkinen K., Isolauri E., Larsen C., Brockmann E., Alanen P., Jokela J., Söderling E. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 in reducing the risk of infections in infancy. *Br J Nutr* 2011, 105(3):409-416
- [60] Dianawati D., Shah N.P. Survival, acid and bile tolerance, and surface hydrophobicity of microencapsulated *B. animalis* ssp. *lactis* Bb12 during storage at room temperature. *J Food Sci* 2011, 76(9):M592-599
- [61] Torabi M. Polysaccharide aus Karaya-Gummi, Sterculia Lychnophora und Hyptis suaveolens. Strukturen, enzymkatalysierte Spaltung und prebiotische Aktivität. *Dissertation* 2011, 1:48

Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1:	Liste, der im Rahmen der Diplomarbeit verwendeten Mono-, Oligo- und Polysaccharide	16
Abbildung 1:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (1)	23
Abbildung 2:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (2)	24
Abbildung 3:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (3)	25
Abbildung 4:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (4)	26
Abbildung 5:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (1)	27
Abbildung 6:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (2)	28
Abbildung 7:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (3)	29
Abbildung 8:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (4)	30
Abbildung 9:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus casei</i> unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (1)	31
Abbildung 10:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus casei</i> unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (2)	32
Abbildung 11:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus casei</i> unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (3)	33
Abbildung 12:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus casei</i> unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (4)	34
Abbildung 13:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus paracasei</i> unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (1)	35
Abbildung 14:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus paracasei</i> unter Einfluss ausgewählter Mono-, Oligo- und Polysaccharide (2)	36

Abbildung 15:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus paracasei</i> unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide (3)	37
Abbildung 16:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus paracasei</i> unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide (4)	38
Abbildung 17:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus reuteri</i> unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide (1)	39
Abbildung 18:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus reuteri</i> unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide (2)	40
Abbildung 19:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus reuteri</i> unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide (3)	41
Abbildung 20:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus reuteri</i> unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide (4)	42
Abbildung 21:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus acidophilus</i> unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide (1)	43
Abbildung 22:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus acidophilus</i> unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide (2)	44
Abbildung 23:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus acidophilus</i> unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide (3)	45
Abbildung 24:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus acidophilus</i> unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide (4)	46
Abbildung 25:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus casei</i> unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide im Vergleich mit <i>Bifidobacterium animalis ssp. lactis</i>	48
Abbildung 26:	Wachstumskurven von <i>Lactobacillus acidophilus</i> unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide im Vergleich mit <i>Bifidobacterium animalis ssp. lactis</i>	49
Abbildung 27:	Wachstumskurven von <i>Bifidobacterium animalis ssp.lactis</i> unter Einfluss ausgewählter Mono- , Oligo- und Polysaccharide	50

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Anja KLIKOVITS
Geboren am: 20.1.1987 in Eisenstadt, Burgenland
Staatsbürgerschaft: österreichisch
Eltern: Lieselotte KLIKOVITS, geb. Gaber,
Angestellte der burgenländischen Landesregierung
Herbert KLIKOVITS,
Angestellter der burgenländischen Landesregierung
Geschwister: Andreas KLIKOVITS,
Angestellter bei IGM-Robotersysteme

Schulische Ausbildung

1990 – 1993: Kindergarten Siegendorf im Burgenland
1993 – 1997: Volksschule Siegendorf im Burgenland
1997 – 2001: röm. kath. Hauptschule Theresianum Eisenstadt
2001 – 2005: Oberstufenrealgymnasium Theresianum Eisenstadt
Oktober 2005: Beginn des Diplomstudiums Pharmazie an der
Universität Wien
März 2013 – September 2013: Diplomarbeit am Department für Pharmazeutische
Technologie und Biopharmazie Wien

Außerordentliche Tätigkeiten während der Studienzeit

Juli 2009 Praktikum in der Burgenland Apotheke in Siegendorf
August 2010 Praktikum in der Burgenland Apotheke in Siegendorf
Juli 2011 Praktikum in der Klosterapotheke in Baumgarten