

**Rozprawy  
Naukowe  
i Monografie**

**Treatises  
and Monographs**

**Małgorzata  
Ziarno**

SGGW  
Katedra Biotechnologii,  
Mikrobiologii i Oceny Żywności

**Studia  
nad wiązaniem  
i usuwaniem  
cholesterolu  
przez komórki  
bakterii  
fermentacji  
mlekowej  
i bifidobakterii  
w warunkach  
*ex vivo***

Wydawnictwo SGGW  
Warszawa 2008

# Spis treści

- 1. Wstęp 9**
- 2. Przegląd literatury 11**
  - 2.1. Znaczenie i zastosowanie bakterii fermentacji mlekowej i bifidobakterii w mleczarstwie 11
  - 2.2. Wpływ bakterii fermentacji mlekowej i bifidobakterii na poziom cholesterolu u ludzi 14
  - 2.3. Znaczenie cholesterolu dla ludzkiego organizmu 16
  - 2.4. Teorie na temat mechanizmów obniżania poziomu cholesterolu przez bakterie fermentacji mlekowej i bifidobakterie u ludzi i w produktach mleczarskich 18
  - 2.5. Miejsca wiązania cholesterolu przez komórki bakteryjne 24
  - 2.6. Przeżywalność komórek bakterii fermentacji mlekowej i bifidobakterii w ludzkim przewodzie pokarmowym 29
  - 2.7. Przeżywalność komórek bakterii fermentacji mlekowej i bifidobakterii w produktach mleczarskich 35
- 3. Geneza, cel i zakres pracy 37**
- 4. Materiały i metodyka pracy 39**
  - 4.1. Materiał biologiczny 39
  - 4.2. Podłoża i inne materiały 40
    - 4.2.1. Podłoża mikrobiologiczne 40
    - 4.2.2. Ważniejsze odczynniki i preparaty zastosowane w badaniach 42
    - 4.2.3. Odczynniki do analiz chromatograficznych 44
  - 4.3. Techniki hodowlane 44
    - 4.3.1. Ożywanie liofilizowanych kultur starterowych 44
    - 4.3.2. Hodowle kultur bakteryjnych wyizolowanych z produktów handlowych 45
    - 4.3.3. Przygotowanie biomasy 45

- 4.4. Metodyka badania zdolności komórek bakterii fermentacji mlekowej i bifidobakterii do usuwania cholesterolu z bulionu hodowlanego, modelowego soku żołądkowego albo modelowego soku jelitowego 46
  - 4.4.1. Przygotowanie prób 46
  - 4.4.2. Przebieg doświadczeń 46
  - 4.4.3. Oznaczanie stężenia cholesterolu w płynie pohodowlanym 47
  - 4.4.4. Pomiar gęstości optycznej hodowli ( $OD_{620nm}$ ) 48
  - 4.4.5. Oznaczanie liczby komórek bakterii metodą płytkową 48
  - 4.4.6. Oznaczanie plonu biomasy hodowli komórek bakterii 49
- 4.5. Metodyka badania zdolności komórek bakterii do uwalniania wcześniej związanego cholesterolu w warunkach modelowego soku żołądkowego lub modelowego soku jelitowego 49
  - 4.5.1. Przygotowanie prób 49
  - 4.5.2. Przebieg doświadczeń 49
- 4.6. Metodyka oznaczania zawartości cholesterolu w wybranych produktach mleczarskich 50
  - 4.6.1. Otrzymywanie śmietany w warunkach laboratoryjnych 50
  - 4.6.2. Otrzymywanie serów typu gouda w warunkach laboratoryjnych 50
  - 4.6.3. Przygotowanie próbek śmietanki i śmietany do oznaczenia zawartości cholesterolu metodą chromatografii gazowej z użyciem aparatu GC-MS Q2010 51
  - 4.6.4. Przygotowanie próbek śmietanki, śmietany i serów do oznaczenia zawartości cholesterolu metodą chromatografii gazowej z użyciem aparatu GC-15A 51
  - 4.6.5. Oznaczanie zawartości cholesterolu metodą chromatografii gazowej z użyciem aparatu GC-MS Q2010 52
  - 4.6.6. Oznaczanie zawartości cholesterolu metodą chromatografii gazowej z użyciem aparatu GC-15A 52
- 4.7. Metody statystyczne 53
- 5. Wyniki badań i dyskusja 54**
  - 5.1. Wpływ wybranych czynników na usuwanie cholesterolu przez komórki bakterii fermentacji mlekowej i bifidobakterii 54
    - 5.1.1. Wpływ stężenia cholesterolu na usuwanie cholesterolu przez bakterie fermentacji mlekowej i bifidobakterie 54
    - 5.1.2. Wpływ temperatury hodowli na usuwanie cholesterolu przez komórki bakterii fermentacji mlekowej i bifidobakterii 63
    - 5.1.3. Wpływ koncentracji biomasy żywych komórek bakteryjnych na usuwanie cholesterolu przez bakterie fermentacji mlekowej i bifidobakterie 69

- 5.1.4. Wpływ koncentracji biomasy martwych komórek bakteryjnych na usuwanie cholesterolu przez bakterie fermentacji mlekowej i bifidobakterie 75
- 5.1.5. Wpływ czasu hodowli na usuwanie cholesterolu przez komórki bakterii fermentacji mlekowej 84
- 5.1.6. Wpływ obecności cholesterolu na przeżywalność komórek bakterii fermentacji mlekowej i bifidobakterii 96
- 5.2. Usuwanie i uwalnianie cholesterolu przez komórki bakterii fermentacji mlekowej i bifidobakterii w modelowych warunkach układu pokarmowego 98
  - 5.2.1. Usuwanie cholesterolu w warunkach modelowego soku żołądkowego 98
  - 5.2.2. Uwalnianie cholesterolu w warunkach modelowego soku żołądkowego 103
  - 5.2.3. Usuwanie cholesterolu w warunkach modelowego soku jelitowego 106
  - 5.2.4. Uwalnianie cholesterolu w warunkach modelowego soku jelitowego 113
  - 5.2.5. Przeżywalność komórek bakterii fermentacji mlekowej i bifidobakterii w modelowych warunkach układu pokarmowego 115
- 5.3. Usuwanie cholesterolu przez komórki bakterii fermentacji mlekowej i bifidobakterii w wybranych fermentowanych produktach mleczarskich 123
  - 5.3.1. Usuwanie cholesterolu w śmietanie przez bakterie fermentacji mlekowej i bifidobakterie 123
  - 5.3.2. Usuwanie cholesterolu w serach typu gouda przez komórki bakterii fermentacji mlekowej 128

## **6. Stwierdzenia i wnioski 132**

Aneks 136

Literatura 140

Summary 150