

GENOWEFA BONCZAR, KRZYSZTOF MACIEJOWSKI, JACEK DOMAGAŁA,  
DOROTA NAJGEBAUER-LEJKO, MAREK SADY, MARIA WALCZYCKA,  
MONIKA WSZOŁEK

## WPLYW PROBIOTYCZNYCH KULTUR STARTEROWYCH NA ZAWARTOŚĆ CHOLESTEROLU W MLECZNYCH NAPOJACH FERMENTOWANYCH

### Streszczenie

Z mleka krowiego poddanego pasteryzacji i zaszczepionego kulturami starterowymi DVS: YC-180 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* oraz *Streptococcus thermophilus*), YO-MIX 207 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*), LA-5 (*Lactobacillus acidophilus*) i BB-12 (*Bifidobacterium bifidum*) wyprodukowano napoje fermentowane. W mleku i wyprodukowanych z niego 1- i 14-dniowych napojach fermentowanych oznaczono zawartość tłuszczu, pH i kwasowość miareczkową, a także zawartość cholesterolu metodą enzymatyczną z użyciem oksydazy cholesterolowej. Mleko pasteryzowane zawierało średnio 20,0 mg/100 g cholesterolu, a jego tłuszcz - 5,64 mg/g. W wyprodukowanych jednodniowych napojach fermentowanych z udziałem szczepionek YC-180, YO-MIX 207, LA-5 i BB-12 stwierdzono statystycznie istotną ( $p \leq 0,05$ ) redukcję poziomu cholesterolu, w porównaniu z mlekiem, odpowiednio do [%]: 49,4, 41,3, 44,8 i 45,9 początkowej jego zawartości w 100 g mleka i odpowiednio do [%]: 54,9, 44,3, 46,3 i 48,0 w 1 g tłuszczu mleka. Kultury starterowe wykazały zróżnicowanie pod względem zdolności do zmniejszania zawartości cholesterolu, przy czym największe – szczepionka YO-MIX 207, a najmniejsze – YC-180. Podczas 14-dniowego przechowywania napojów w warunkach chłodniczych zaobserwowano dalsze zmniejszenie poziomu cholesterolu w napojach i w ich tłuszczu, średnio o około 15 %.

**Słowa kluczowe:** mleko, kultury starterowe, probiotyczne napoje fermentowane, cholesterol

### Wprowadzenie

Bakterie fermentacji mlekowej odgrywają pozytywną rolę w obniżaniu poziomu cholesterolu w organizmie człowieka [10, 16, 17, 23, 24, 30, 31, 32, 37]. Z badań

---

*Prof. dr hab. G. Bonczar, dr inż. K. Maciejowski, prof. dr hab. J. Domagała, dr inż. D. Najgebauer-Lejko, dr inż. M. Sady, dr inż. M. Walczycka, dr hab. M. Wszolek, prof. nadzw., Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków. Kontakt: g.bonczar@ur.krakow.pl*

niektórych autorów wynika, że mają one zdolność obniżania poziomu cholesterolu już w mleku po jego zaszczepieniu i inkubacji [12, 21, 25, 36]. Za zjawisko wiązania cholesterolu przez bakterie fermentacji mlekowej odpowiedzialny jest obecny w ich ścianie komórkowej peptydoglikan [4, 13, 22]. Wiązanie to ma charakter fizyczny (tzw. adhezja) lub chemiczny (tzw. asymilacja) [19]. Z badań przeprowadzonych przez Hosono i Tono-Okat [9] oraz Usmana i Hosono [33] wynika, że peptydoglikan wyizolowany z bakterii zawiera od 28 ÷ 34 % całkowitej ilości cholesterolu, który został wbudowany w komórki lub w ścianę komórkową bakterii. Ziarno i wsp. [38] wskazują, że różnice w poziomie związanego cholesterolu przez drobnoustroje są uzależnione od właściwości chemicznych i strukturalnych peptydoglikanu obecnego w komórkach mikroorganizmów. Wymienieni autorzy uważają, że ściany komórkowe martwych bakterii fermentacji mlekowej wykazują także zdolność do wiązania cholesterolu, przy czym ilość cholesterolu usuniętego przez żywe komórki bakterii jest znacznie większa niż tego, który zostaje przyłączony przez martwe komórki. Wyniki badań innych autorów dowodzą, że wiązanie cholesterolu przez pałeczki fermentacji mlekowej jest większe niż przez paciorkowce. Smith i wsp. [27], Fujishiro i wsp. [5] oraz Lu i wsp. [20] uważają, że przyczyną obniżania poziomu cholesterolu w napojach fermentowanych są enzymy mające zdolność rozkładania cholesterolu (np. reduktaza lub oksydaza cholesterolowa), które są produkowane przez niektóre drobnoustroje.

Obserwuje się zróżnicowanie redukcji zawartości cholesterolu w mleku w zależności od kultur bakteryjnych stosowanych do jego zaszczepiania. Akalin i wsp. [1] oraz Juśkiewicz i Panfil-Kuncewicz [12] zaobserwowali mniejszą redukcję poziomu cholesterolu w jogurcie uzyskanym z mleka zaszczepionego *Bifidobacterium bifidum* i *Lactobacillus acidophilus* w porównaniu z jogurtem wyprodukowanym z dodatkiem kultur *Streptococcus thermophilus* oraz *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Ci ostatni wykazali, że w jogurtach o mniejszej zawartości tłuszczu następuje większa redukcja zawartości cholesterolu w porównaniu z jogurtami wysokotłuszczowymi. Hang i Luo [8] stwierdzili, że niektóre szczepy *Lactobacillus acidophilus* i *Lactococcus diacetilactis* mogą obniżyć poziom cholesterolu nawet o 45 % w śmietanie w porównaniu ze śmietanką. Z badań przeprowadzonych przez Ziarno i wsp. [39] wynika natomiast, że w śmietanie przechowywanej przez 14 dni zawartość cholesterolu zmniejsza się o 35 % w porównaniu z jego poziomem w śmietance. Autorzy dowiedli, że czas przechowywania wpływa na zmniejszenie zawartości cholesterolu w produkcie oraz na żywotność i ilość mikroorganizmów w mlecznych produktach fermentowanych. Zmniejszenie zawartości cholesterolu w maśle po dodaniu do plazmy bakterii *Lactobacillus acidophilus* zaobserwowali również Kiszka i wsp. [14].

Prozdrowotne właściwości bakterii probiotycznych znane są dzięki prowadzonym badaniom [15, 30, 34, 35, 40, 41], w tym dotyczącym obniżenia poziomu cholesterolu

w organizmie człowieka pod wpływem żywności zawierającej te probiotyczne mikroorganizmy [7, 26, 29]. Uwagę poświęca się również badaniu wpływu niektórych gatunków bakterii probiotycznych na obniżenie poziomu cholesterolu w napojach fermentowanych wyprodukowanych z ich udziałem. Znacznie mniej publikacji dotyczy oceny zmian zawartości cholesterolu w mleku po jego inkubacji ze szczepami probiotycznymi, szczególnie w postaci pojedynczych kultur *Bifidobacterium* lub *Lactobacillus*, mogących mieć zastosowanie w przemysłowej produkcji napojów probiotycznych.

Celem pracy było określenie wpływu kultur starterowych o zróżnicowanym składzie (w tym probiotycznych), po inkubacji w mleku w optymalnych dla nich warunkach temperatury i czasu, na zmiany zawartości cholesterolu w napojach fermentowanych świeżych i przechowywanych w warunkach chłodniczych przez 14 dni, w porównaniu z mlekiem przed inkubacją.

### **Material i metody badań**

Materiałem doświadczalnym było mleko surowe pobierane 3-krotnie w okresie od maja do czerwca 2012 r. Mleko pochodziło od krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej odmiany czarno-białej z okolic Krakowa. Każdorazowo mleko dzielono na 5 części. Każdą z nich pasteryzowano w temp. 95 °C przez 10 min. Jedną część mleka chłodzono do temp. 45 °C i zaszczepiano 2-procentowym dodatkiem zakwasu DVS jogurtowego YC-180 (Christian Hansen, Dania), zawierającego szczepy *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* oraz *Streptococcus thermophilus*, a następnie w tej temperaturze inkubowano przez 6 h do uzyskania skrzepu o pH 4,6 ÷ 4,8. Uzyskany napój oznaczono jako YC-180. Drugą część mleka chłodzono również do temp. 45 °C, zaszczepiano 2-procentowym dodatkiem zakwasu DVS YO-MIX 207 (Christian Hansen, Dania), zawierającego szczepy *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*. Mleko z zakwasem inkubowano przez 6 h do uzyskania pH 4,6 ÷ 4,8. Uzyskany napój oznaczono jako YO-MIX. Trzecią część mleka chłodzono do temp. 38 °C, dodawano 2 % zakwasu DVS LA-5 (Christian Hansen, Dania), zawierającego szczepy *Lactobacillus acidophilus* i w tej samej temperaturze inkubowano przez 12 h do uzyskania skrzepu o pH 4,6 ÷ 4,8, uzyskując napój fermentowany LA-5. Z czwartą częścią mleka postępowano jak z poprzednią, przy czym mleko zaszczepiano szczepionką BB-12 (Christian Hansen, Dania), zawierającą pojedynczy szczep *Bifidobacterium bifidum*, uzyskując napój BB-12. Piątą część mleka spasteryzowanego przeznaczano do przeprowadzenia analiz. Napoje fermentowane przechowywano w warunkach chłodniczych (4 °C) przez 14 dni.

Przeprowadzono analizy mleka pasteryzowanego, napojów fermentowanych świeżych i 14-dniowych.

We wszystkich próbkach mleka oznaczano (w trzech powtórzeniach):

- zawartość tłuszczu – metodą objętościową Gerbera [18],
- oznaczenie kwasowości miareczkowej ( $^{\circ}\text{SH}$ ) – metodą Soxhleta-Henkla [18],
- oznaczenie kwasowości czynnej (pH) – metodą potencjometryczną za pomocą pH-metru CP-502 Elmetron Polska [18],
- oznaczenie zawartości cholesterolu – metodą enzymatyczną z użyciem oksydazy cholesterolowej według Grossmanna i wsp. [6], opracowaną przez firmę R-Biopharm (Boehringer Mannheim/R-Biopharma-Enzymatische Bioanalytik). Metoda ta polega na pomiarze absorbancji roztworu kontrolnego i roztworu badanego po dodaniu odczynnika – enzymu oksydazy cholesterolowej, przy długości fali  $\lambda = 405$  nm. Pomiaru absorbancji dokonywano w spektrofotometrze Helios Gamma i Delta Spectro-Lab. (Thermo Elektron Corp., Wielka Brytania).

W świeżych i 14-dniowych napojach fermentowanych oznaczano:

- zawartość tłuszczu – metodą Gerbera [18],
- kwasowość czynną (pH) – metodą potencjometryczną za pomocą pH-metru [18].
- kwasowość miareczkową metodą Soxhleta-Henkla [18],
- zawartość cholesterolu – metodą enzymatyczną, jak podano wyżej, z użyciem oksydazy cholesterolowej według Grossmanna i wsp. [6], opracowaną przez firmę R-Biopharm [Boehringer Mannheim/R-Biopharma-Enzymatische Bioanalytik].

Wyniki przeprowadzonych oznaczeń opracowano statystycznie za pomocą programu komputerowego Statistica v. 8.0. Obliczono wartości średnie analizowanych parametrów i odchylenia standardowe. Przeprowadzono jedno- i dwuczynnikową analizę wariancji. Istotność różnic między wartościami średnimi weryfikowano wielokrotnym testem rozstępu Duncana na poziomach istotności  $p \leq 0,05$  i  $p \leq 0,01$ .

## Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono wyniki oznaczania wybranych właściwości mleka krowiego pasteryzowanego oraz wyprodukowanych z niego świeżych napojów fermentowanych.

Średnie zawartości tłuszczu w badanym mleku pasteryzowanym i w napojach fermentowanych nie różniły się statystycznie istotnie, natomiast stwierdzono statystycznie istotne różnice ( $p \leq 0,01$ ) między mlekiem i napojami pod względem kwasowości czynnej i miareczkowej. Najwyższym pH charakteryzowały się napoje BB (wyprodukowane z udziałem *Bifidobacterium bifidum*), a najniższym – YC (wyprodukowane z udziałem *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*), co może świadczyć o większych zdolnościach fermentacyjnych tradycyjnych kultur starterowych w porównaniu z probiotycznymi, a szczególnie z *Bifidobacterium bifidum*.

Tabela 1. Właściwości mleka i świeżych napojów fermentowanych

Table 1. Properties of milk and freshly fermented milk drinks

Rodzaj napoju Type of fermented milk drink	Zawartość tłuszczu Content of fat [%]	Kwasowość miareczkowa Titratable acidity [°SH]	pH
	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Mleko pasteryzowane Pasteurized milk	3,70 ± 0,35	6,50 <sup>A</sup> ± 0,06	6,82 <sup>A</sup> ± 0,03
YC	3,39 ± 0,16	29,0 <sup>B</sup> ± 1,42	4,39 <sup>B</sup> ± 0,02
YO-MIX	3,47 ± 0,37	28,2 <sup>B</sup> ± 1,27	4,49 <sup>B</sup> ± 0,17
BB	3,57 ± 0,38	25,6 <sup>B</sup> ± 5,52	4,80 <sup>B</sup> ± 0,91
LA	3,53 ± 0,43	27,2 <sup>B</sup> ± 6,80	4,71 <sup>B</sup> ± 0,48

Objaśnienia: / Explanatory notes:

YC – napój fermentowany z *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* / drink fermented using *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*; YO-MIX – napój fermentowany z *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Str. thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* / drink fermented using *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Str. thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*; BB – napój fermentowany z *Bifidobacterium bifidum* / drink fermented using *Bifidobacterium bifidum*; LA – napój fermentowany z *Lactobacillus acidophilus* / drink fermented using *Lactobacillus acidophilus*;

$\bar{x}$  – wartość średnia / mean value; s – odchylenie standardowe; / SD- standard deviation; n = 3

A, B – wartości średnie oznaczone różnymi literami w kolumnie różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,01$ ) / mean values in column and denoted by different letters differ statistically significantly at  $p \leq 0.01$ ;

We wszystkich wyprodukowanych napojach fermentowanych stwierdzono statystycznie istotnie ( $p \leq 0,01$ ) mniejszą zawartość cholesterolu niż w mleku pasteryzowanym (tab. 2). Spośród probiotycznych bakterii starterowych największą redukcję cholesterolu, w porównaniu z mlekiem, spowodowały kultury YO-MIX (z udziałem *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Str. thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*) – o 58,7 % w przeliczeniu na 100 g produktu i o 55,5 % – na 1 g tłuszczu. Nie stwierdzono natomiast różnic pod względem zawartości tego składnika między poszczególnymi napojami fermentowanymi.

Juśkiewicz i Panfil-Kuncewicz [12] oceniali stopień redukcji cholesterolu w mleku przez kultury starterowe o składzie mikrobiologicznym zbliżonym do wykorzystanych w niniejszej pracy: YC (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) i YO-MIX (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Str. thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*). Stwierdzili, że kultury starterowe YC w większym stopniu redukują zawartość cholesterolu niż YO-MIX (odpowiednio o: 19,8 ÷ 22,2 % i 3,1 ÷ 3,2 %). Badania własne wskazywały na odwrotną tendencję, ale różnice między ocenianymi napojami fermentowanymi nie były statystycznie istotne. Marshall [21] podaje, że kultury starterowe zawierające *Lactobacillus acidophilus* i *Lactobacillus casei* mają szczególne zdolności do obniżania zawartości cholesterolu. Zheng i Lu [36] przebadali zdolność redukowania

cholesterolu w medium mlecznym przez 14 szczepów bakterii w tym: 5 szczepów *Lactobacillus acidophilus*, a także *L. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *L. casei*, *L. helveticus*, *Lactococcus cremoris*, *Lactococcus diacetylactis*, *Lactococcus lactis*. Stwierdzili, że 2 szczepy: *Lactobacillus acidophilus* i *Lactococcus diacetylactis* wpłynęły na zmniejszenie zawartość cholesterolu > 45 %, a pozostałe – w zakresie 40 ÷ 45 %. Serajzadeh i Alemzadeh [25] podają, że zdolność do redukcji cholesterolu w napojach fermentowanych wykazują zarówno wolne, jak i immobilizowane komórki bakterii *Lactobacillus acidophilus*.

Tabela 2. Zawartość cholesterolu w mleku oraz w mlecznych napojach fermentowanych, determinowana rodzajem napoju

Table 2. Content of cholesterol in milk and fermented milk drinks as determined by drink type

Rodzaj napoju Type of drink	Zawartość cholesterolu / Content of cholesterol			
	$\bar{x} \pm s / SD$ [mg/g tłuszczu] [mg/g fat]	[% zawartości w stosunku do tłuszczu mleka] [Expressed as percentage % of milk fat]	$\bar{x} \pm s / SD$ [mg/100 g napoju] [mg/100 g drink]	[% zawartości w stosunku do mleka] [Expressed as percentage % of milk]
Mleko pasteryzowane Pasteurized milk	5,46 <sup>A</sup> ± 0,42	100,0	20,00 <sup>A</sup> ± 1,6	100,0
YC	3,00 <sup>B</sup> ± 0,16	54,9	9,88 <sup>B</sup> ± 0,05	49,4
YO-MIX	2,42 <sup>B</sup> ± 0,23	44,3	8,26 <sup>B</sup> ± 0,21	41,3
BB	2,53 <sup>B</sup> ± 0,29	46,3	8,95 <sup>B</sup> ± 1,01	44,8
LA	2,62 <sup>B</sup> ± 0,11	48,0	9,18 <sup>B</sup> ± 0,70	45,9

Objaśnienia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

Po przeprowadzeniu analizy dotyczącej wpływu czasu przechowywania i rodzaju kultur probiotycznych na zawartość tłuszczu w napojach fermentowanych oraz na ich kwasowość miareczkową i czynną stwierdzono brak statystycznie istotnego wpływu (przy  $p \leq 0,05$ ) obu czynników doświadczalnych na zawartość tłuszczu. Nie stwierdzono również istotnego wpływu rodzaju kultur starterowych i czasu przechowywania na kwasowość napojów (tab. 3).

Stwierdzono natomiast statystycznie istotny wpływ zarówno rodzaju kultur starterowych, jak i czasu przechowywania na zawartość cholesterolu w napojach fermentowanych w przeliczeniu na 1 g tłuszczu ( $p \leq 0,01$ ) oraz w przeliczeniu na 100 g napoju ( $p \leq 0,05$  i  $p \leq 0,01$ ) – tab. 4. We wszystkich napojach z dodatkiem kultur probiotycznych zawartość cholesterolu była mniejsza niż w napoju YC. Zawartość cholesterolu została najbardziej zredukowana w napojach probiotycznych YO-MIX, w

mniejszym

Tabela 3. Kwasowość czynna (pH) i miareczkowa oraz zawartość tłuszczu w mlecznych napojach fermentowanych, determinowane rodzajem użytej kultury starterowej i czasem przechowywania

Table 3. pH and titratable acidity, and content of fat in fermented milk drinks as determined by type of starter culture and time of storage

Czynniki Factors		Zawartość tłuszczu Content of fat [%]	Kwasowość miareczkowa Titratable acidity [°SH]	pH
		$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$	$\bar{x} \pm s / SD$
Czas przechowywania Storage time [dni / days]	1	3,48 ± 0,15	27,48 ± 1,95	4,60 ± 0,14
	14	3,54 ± 0,14	30,53 ± 1,60	4,41 ± 0,11
Rodzaj napoju Type of drink	YO	3,33 ± 0,12	29,97 ± 0,93	4,33 ± 0,04
	YO-MIX	3,47 ± 0,23	29,60 ± 0,91	4,42 ± 0,04
	BB	3,66 ± 0,25	26,67 ± 3,57	4,76 ± 0,26 1
	LA	3,60 ± 0,26	29,80 ± 3,73	4,51 ± 0,23

Objaśnienia symboli jak pod tab. 1 / Meanings of symbols as in Tab. 1 1.

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values and standard deviations; n = 12 (dni / days), n = 6 (napoje / drinks).

Tabela 4. Zawartość cholesterolu w mlecznych napojach fermentowanych, determinowana rodzajem użytych kultur starterowych i czasem przechowywania

Table 4. Content of cholesterol in fermented milk drinks as determined by type of starter cultures used and storage time

Czynniki Factors		Zawartość cholesterolu / Content of cholesterol			
		[mg/g tłuszczu] / [mg/g of fat]		[mg/100 g napoju] / [mg/100 g of drink]	
		$\bar{x}$	s / SD	$\bar{x}$	s / SD
Czas przechowywania Storage time [dni] / [days]	1	2,64 <sup>A</sup>	0,11	9,07 <sup>A</sup>	0,32
	14	2,25 <sup>B</sup>	0,08	7,71 <sup>B</sup>	0,30
Rodzaj napoju Type of drink	YC	2,77 <sup>Aa</sup>	0,14	9,17 <sup>A</sup>	0,32
	YO-MIX	2,20 <sup>B</sup>	0,17	7,54 <sup>B</sup>	0,39
	BB	2,30 <sup>b</sup>	0,15	8,26	0,67
	LA	2,50	0,09	8,59	0,49

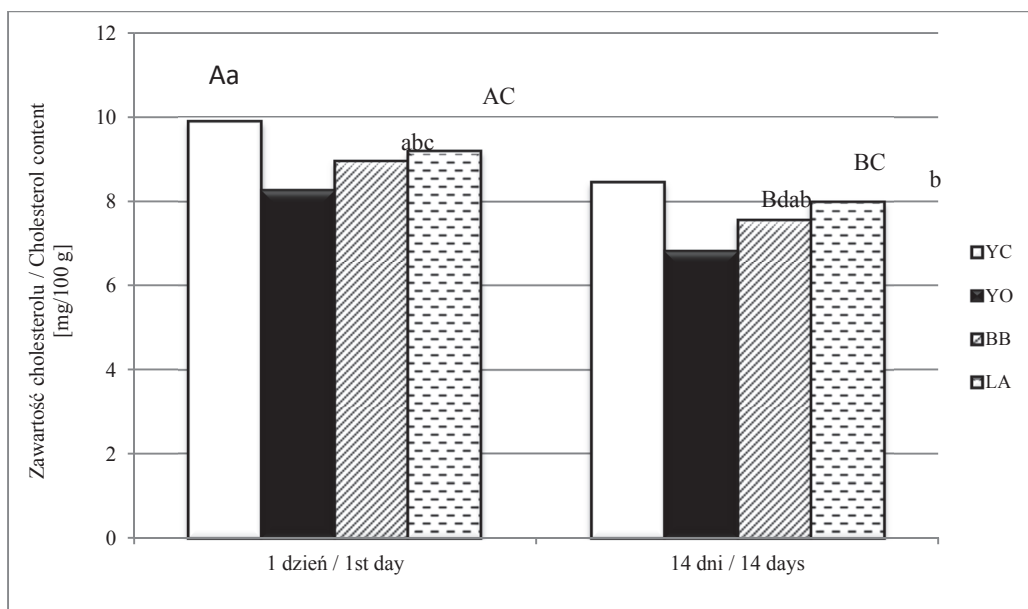
Objaśnienia: / Explanatory notes:

Objaśnienia symboli jak pod tab. 1 / Meanings of symbols as in Tab. 1.

A, B – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,01$ ) w obrębie czynnika / mean values denoted by different letters differ statistically significantly at  $p \leq 0.01$  within factor; a, b - wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ )

w obrębie czynnika / mean values denoted by different letters differ statistically significantly at  $p \leq 0.05$  within factor.

zaś stopniu – w napojach BB i LA (tab. 4). Do istotnego ( $p \leq 0,01$ ) zmniejszenia zawartości cholesterolu w badanych napojach przyczynił się również 14-dniowy okres przechowywania (tab. 4, rys. 1). Wielu autorów podkreśla, że zdolność i efektywność wiązania cholesterolu przez bakterie fermentacji mlekowej zależą od ich gatunku i szczepu [2, 3, 4, 9, 39]. Juśkiewicz i Panfil-Kuncewicz [12] oraz Tabuchi i wsp. [28] twierdzą, że zdolność ta zależy także od fazy wzrostu i żywotności bakterii. Największa redukcja cholesterolu następuje podczas logarytmicznego wzrostu komórek.



Objaśnienia: / Explanatory notes:

Objaśnienia symboli jak pod tab. 1 / Meanings of symbols as in Tab. 1.

A, B, C – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,01$ ) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly at  $p \leq 0.01$ ;

a, b, c – wartości średnie oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) / mean values denoted by different letters differ statistically significantly at  $p \leq 0.05$ .

Rys. 1. Zawartość cholesterolu w mleknych napojach fermentowanych zróżnicowanych rodzajem użytych kultur starterowych, podczas przechowywania

Fig. 1. Content of cholesterol in milk drinks, fermented using different types of starter cultures, during storage



## Wnioski

1. Zastosowanie bakterii probiotycznych do fermentacji mleka wpłynęło na istotną redukcję zawartości cholesterolu, która pogłębiała się podczas 14-dniowego przechowywania napojów fermentowanych.
2. Pomiędzy napojami stwierdzono istotne różnice pod względem zdolności redukcji cholesterolu, wynikające z rodzaju użytych kultur bakterii kwasu mlekowego.
3. Tradycyjne kultury jogurtowe (YC – *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*) w mniejszym stopniu redukowały zawartość cholesterolu w mleku w porównaniu z kulturami probiotycznymi.

*Badania zrealizowano i sfinansowano z tematu DS/3700/WTŻ w latach 2011 i 2015.*

## Literatura

- [1] Akalin S.A., Fenderya S., Akbulut N.: Variability and activity of *Bifidobacteria* in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2004, **6** (39), 613-621.
- [2] Baj J., Markiewicz Z.: *Biologia molekularna bakterii*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 2006.
- [3] Brashears M.M., Gilliland S.E., Buck L.M.: Bile salt deconjugation and cholesterol removal from media by *Lactobacillus casei*. *J. Dairy Sci.*, 1998, **81**, 2103-2110.
- [4] Dambekodi P.C., Gilliland S.E.: Incorporation of cholesterol into the cellular membrane of *Bifidobacterium longum*. *J. Dairy Sci.*, 1998, **81**, 1818-1824.
- [5] Fujishiro K., Uchida H., Shimokawa K., Nakano M., Sano F., Ohta T., Kaya-Hara N., Asiaka K., Umwajimat T.: Purification and properties of a new *Brevibacterium steroli* cum cholesterol oxidase produced by *E. coli* MM294/pn H10. *FEMS Microbiology Letters*, 2002, **215**, 243-248.
- [6] Grossmann A., Timmen H., Klostermeyer H.: Die enzymatische Bestimmung von Cholesterin in Milchfett – eine Alternative zu den bisher gebräuchlichen Methoden. *Milchwissenschaft*, 1976, **31**, 721-724.
- [7] Grundy S.M.: Cholesterol, factors determining levels in blood. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Ed. Roginski H., Fuquay J., Fox P., Academic Press Elsevier Science, 2004, **3**, 1604-1611.
- [8] Hang J.C., Luo C.Y.: Cholesterol removal from foods using lactic acid bacteria. *Food Sci. Technol.*, 1998, **3** (19), 20-22.
- [9] Hosono A., Tono-Okat T.: Binding of cholesterol with lactic acid bacterial cells. *Milchwissenschaft*, 1995, **50**, 556-559.
- [10] Huang Y., Wang X.J., Wang J.F., Wu F., Sui Y.J., Yang L.F., Wang Z.G.: *Lactobacillus plantarum* strains as potential probiotic cultures with cholesterol-lowering activity. *J. Dairy Sci.*, 2013, **5** (96), 2746-2753.
- [11] Huang Y., Wu F., Wang X.J., Sui Y.J., Yang L.F., Wang J.F.: Characterization of *Lactobacillus plantarum* Lp27 isolated from Tibetan kefir grains: A potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. *J. Dairy Sci.*, 2013, **5** (96), 2816-2825.
- [12] Juśkiewicz M.E., Panfil-Kuniewicz H.: Reduction of cholesterol content in milk with dairy thermophilic cultures application. *Milchwissenschaft*, 2003, **7/8** (58), 370-373.

- [13] Kimoto H., Ohmono S., Okamoto T.: Cholesterol removal from media by lactococci. *J. Dairy Sci.*, 2002, **85**, 3182-3188.
- [14] Kisza J., Staniewski B., Juśkiewicz M., Rosiński P.: Reduction of cholesterol in butter depending cream acidity. *Pol. J. Food Nutr. Scie.*, 1996, **5/46**, 4, 19-28.
- [15] Koziół J., Gustaw W.: Stymulowanie wzrostu bakterii fermentacji mlekowej przez białka mleka. *Przeł. Mlecz.*, 2012, **12**, 10-14.
- [16] Kumar M., Nagpal R., Kumar R., Hemalatha R., Verma V., Kumar A., Chakraborty C., Singh B., Marotta F., Jain S., Yadav H.: Cholesterol – lowering probiotics as potential biotherapeutics for metabolic diseases. *Exp. Diab. Res.*, 2012, 902917.
- [17] Lee H., Yoon H., Ji Y., Kim H., Park H., Lee J., Shin H., Holzapfel W.: Functional properties of *Lactobacillus* strains isolated from kimchi. *Int. J. Food Microbiol.*, 2011, **1** (145), 155-161.
- [18] Litwińczuk A., Litwińczuk Z., Barłowska J., Florek M., Król J., Grodzicki T., Kędzierska-Matysek M., Skąlecki P.: Metody oceny towaroznawczej surowców i produktów zwierzęcych. Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, Lublin 2011.
- [19] Long M.T., Shah N.P.: Acid and bile tolerance and cholesterol removal ability of *Lactobacillus* strains. *J. Dairy Sci.*, 2005, **88**, 55-66.
- [20] Lu Y.L., Tang Y., Wang L., Chen Y., Yang S., Wang W.: Bioconversion of yolk cholesterol by extracellular cholesterol oxidase from *Brevibacterium* sp. *Food Chem.*, 2002, **77**, 457-463.
- [21] Marshall V.M.: Starter cultures for milk fermentation and their characteristics. *J. Soc. Dairy Technol.*, 1993, **2** (46), 49-56.
- [22] Naverd K.P., Fryer E.B., Fryer H.C.: Effects of skim milk, skim milk powder, orotic acid and uric acid on lipid metabolism in rats. *J. Nutr. Biochem.*, 1990, **1** (2), 640-646.
- [23] Pan D.D., Zeng X.Q., Yan Y.T.: Characterization of *Lactobacillus fermentum* SM-7 isolated from koumiss, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. *J. Sci. Food Agric.*, 2011, **3**, (91), 512-518.
- [24] Schiby V.K., Mishra H.N.: Fermented milks and milk products as functional foods – a Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2013, **5** (53), 482-496.
- [25] Serajzadeh S., Alemzadeh I.: Milk cholesterol reduction using immobilized *Lactobacillus acidophilus* ATCC 1643 in sodium – alginate. *Int. J. Food Eng.*, 2008, 4, 8.
- [26] Sieber R., Eyer H.: Cholesterol removal from dairy products. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Ed. Roginski H. Academic Press Elsevier Science, 2004, **3**, 1611-1617.
- [27] Smith M., Sullivan C., Goodman N.: Enzymatic determination of cholesterol in egg yolk. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.*, 1991, **65**, 1221-1224.
- [28] Tabuchi M., Tanura A., Yamada N., Ishidat T., Hododam M., Hosono A.: Hipocholesterolemic effect of disable and heat-sterilized cells of *Lactobacillus* GG in rats fed a high cholesterol diet. *Milchwissenschaft*, 2004, **5/6** (58), 249-253.
- [29] Takano T., Yamamoto V.: Health effects of fermented milks. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Ed. Roginski H. Academic Press Elsevier Science, 2004, **2**, 1063-1069.
- [30] Toit M., Franz C.M.A.P., Dicks L.M.T., Schillinger U., Haberer P., Warlies B.: Characterization and selection of probiotic lactobacilli for a preliminary mini pig feeding trial and their effect on serum cholesterol levels, faces pH and faces moisture content. *Int. J. Food Microbiol.*, 1998, v. 40 issues 1-2, 93-104.
- [31] Tok E., Aslim B.: Cholesterol removal by some lactic acid bacteria that can be used as probiotic. *Microbiology and Immunology*, 2010, **5**, (54), 257-264.
- [32] Uroic K., Nikolic M., Kos B., Pavunc A.L., Beganovic J., Lukic J., Jovcic B., Filipic B., Miljkovic M., Golic N., Topisirovic L., Cadez N., Raspor P., Suskovic J.: Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Croatian fresh soft cheese and Serbian white pickled cheese. *Food Technol. Biotechnol.*, 2014, **2** (52), SI, 232-241

- [33] Usman B., Hosono A.: Binding of cholesterol on the cells and peptidoglycan of *Lactobacillus casei*. *Milchwissenschaft*, 1999, **54**, 495-498.
- [34] Vijayendra S.V.N., Gupta R.V.: Assessment of probiotic and sensory properties of dahi and yoghurt prepared using bulk freeze-dried cultures in buffalo milk. *Ann. Microbiol.*, 2012, **62**, 939-947.
- [35] Zaręba D., Ziarno M.: Przeżywalność bakterii kwasu mlekowego i bifidobakterii w jogurtach handlowych. *Przegl. Mlecz.*, 2013, **9**, 14-20.
- [36] Zheng Y.C., Lu Y.L.: Cholesterol removal from foods using lactic acid bacteria. *Food Science*, 1998, **3 (19)**, 20-22.
- [37] Zheng Y.C., Lu Y.L., Wang J.F., Yang L.F., Pan C.Y., Huang Y.: Probiotic properties of *Lactobacillus* strains isolated from Tibetan Kefir grains. *PLOS ONE*, 2013, vol 8, issue 7.
- [38] Ziarno M., Sękuł E., Makowska M.: Wiązanie cholesterolu przez kultury starterowe mezofilnych paciorkowców mlekowych. *Biotechnologia*, 2006, **2 (73)**, 234-246.
- [39] Ziarno M.: Studia nad wiązaniem i usuwaniem cholesterolu przez komórki bakterii fermentacji mlekowej i bifidobakterii w warunkach *ex vivo*. *Rozprawy naukowe i monografie*. Wyd. SGGW, Warszawa 2009.
- [40] Ziarno M., Sękuł E., Lafaya A.A.: Cholesterol assimilation by commercial yoghurt starter cultures. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, 2007, **1 (6)** 83-94.
- [41] Ziarno M., Godlewska A.: Znaczenie i wykorzystanie bakterii rodzaju *Lactobacillus* w mleczarstwie. *Med. Weter.*, 2008, **1 (64)**, 35-39.

#### EFFECT OF PROBIOTIC STARTER CULTURES ON CHOLESTEROL LEVEL IN FERMENTED MILK DRINKS

##### S u m m a r y

Fermented drinks were produced from pasteurized cow's milk inoculated using the following DVS starter cultures: YC-180 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*), YO-MIX 207 (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*), LA-5 (*Lactobacillus acidophilus*), and BB-12 (*Bifidobacterium bifidum*). In the milk and in the fermented milk drinks made from it and stored for 1 and 14 days, the following was determined: content of fat, pH value, titrable acidity, and cholesterol level using an enzymatic method with a cholesterol oxidase. The pasteurized milk contained 20.0 mg/100 g of cholesterol on average, whereas its fat contained 5.64 mg/g of cholesterol. Compared to the milk, in the produced one-day old milk drinks fermented using YC-180, YO-MIX 207, LA-5 and BB-12 starters, a statistically significant ( $p \leq 0.05$ ) reduction was found in the level of cholesterol; it amounted to, respectively: 49.4 %, 41.3 %, 44.8 %, and 45.9 % of the initial content of cholesterol in 100 g of milk and to, respectively: 54.9 %, 44.3 %, 46.3 %, and 48.0 % in 1 g of milk fat. The starter cultures applied differed in their capacity to decrease the content of cholesterol: the capacity of YO-MIX 207 inoculating culture was the strongest, whereas that of YC-180 was the weakest. During chilled storage of drinks for 14 days, a further decrease was reported in the cholesterol level in the drinks and in their fat: 15 % on average.

**Key words:** milk, starter cultures, fermented probiotic drinks, cholesterol ☒