

MAŁGORZATA ZIARNO, BEATA MARGOL

## BADANIA NAD ZDOLNOŚCIĄ WYBRANYCH KULTUR STARTEROWYCH BAKTERII MLEKOWYCH DO PRZEŻYWANIA W MODELOWYM SOKU ŻOŁĄDKOWYM ORAZ WIĄZANIA CHOLESTEROLU W TYCH WARUNKACH

### Streszczenie

Celem pracy było określenie zdolności wybranych bakterii fermentacji mlekowej do przeżywania w modelowym soku żołądkowym oraz w bulionie hodowlanym. Ponadto zbadano ich zdolność do wiązania cholesterolu w zastosowanych warunkach. W celu porównania zbadano przeżywalność pałeczek kwasu mlekowego z preparatu farmaceutycznego Nutriplant.

Wykazano, że szczepy probiotyczne (ze szczepionek BA, LA-5, preparatu Nutriplant oraz pałeczki i bifidobakterie z kultury ABT-2) charakteryzowały się lepszą przeżywalnością w modelowym soku żołądkowym oraz wiązały więcej cholesterolu w tych warunkach niż kultury tradycyjne (obecne w szczepionkach: Culture de yoghurt concentree Type 1, CHN-19, TAO 40, O-Culture R-603 i paciorkowce z kultury ABT-2). W modelowym soku żołądkowym największą ilość cholesterolu związały bakterie ze szczepionek LA-5 (0,11 g/dm<sup>3</sup>), BA (0,07 g/dm<sup>3</sup>), ABT-2 (0,03 g/dm<sup>3</sup> w przypadku pałeczek mlekowych i bifidobakterii oraz 0,02 g/dm<sup>3</sup> w przypadku streptokoków) i bakterie z preparatu Nutriplant (0,03 g/dm<sup>3</sup>). Pozostałe szczepionki związały znikome ilości cholesterolu (0,002-0,007 g/dm<sup>3</sup>). Wiązanie cholesterolu w bulionie MRS lub M17 było większe niż w modelowym soku jelitowym.

**Słowa kluczowe:** bakterie fermentacji mlekowej, kultury starterowe, przeżywalność, sok żołądkowy, wiązanie cholesterolu

### Wprowadzenie

Bakterie fermentacji mlekowej są wykorzystywane w produktach żywnościowych od tysiącleci, jednak wiedza o ich właściwościach prozdrowotnych stale poszerza się. Wiele badań naukowych dowodzi prozdrowotnego efektu działania bakterii fermentacji mlekowej, jakim jest obniżanie poziomu cholesterolu. Takie działanie przypisuje się nie tylko szczepom probiotycznym, lecz również tradycyjnie stosowanym do wyrobu

---

*Dr inż. M. Ziarno, mgr inż. B. Margol, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Wydz. Technologii Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa*

fermentowanych produktów mleczarskich. Jako prawdopodobny mechanizm obniżania poziomu cholesterolu podaje się wiązanie cholesterolu do peptydoglikanu ściany komórkowej lub do błony cytoplazmatycznej komórki. Przypuszcza się, że hipocholesterolemiczne działanie bakterii kwasu mlekowego może zachodzić również w środowisku przewodu pokarmowego. Jednak bakterie muszą przetrwać w tym środowisku, aby móc oddziaływać prozdrowotnie na organizm człowieka. Jednym z niekorzystnych czynników jest kwaśne środowisko panujące w żołądku.

Celem niniejszej pracy było określenie zdolności bakterii fermentacji mlekowej, wchodzących w skład wybranych mleczarskich kultur starterowych, do przeżywania w środowisku imitującym sok żołądkowy oraz ocena stopnia wiązania cholesterolu w tych warunkach.

### Material i metody badań

Materiałem do badań było 7 liofilizowanych mleczarskich kultur starterowych bakterii fermentacji mlekowej oraz jeden preparat farmaceutyczny: LA-5 (Chr. Hansen; monokultura *Lb. acidophilus*), TAO 40 (Chr. Hansen; monokultura *S. thermophilus*), BA (Chr. Hansen; *Lb. rhamnosus* i *Bifidobacterium* sp.), ABT-2 (Chr. Hansen; *S. thermophilus*, *Lb. acidophilus* i *Bifidobacterium* sp.), Culture de yoghurt concentree Type 1 (Institut Rosse; *S. thermophilus* i *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*), CHN-19 (Chr. Hansen; kultura *L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *diacetylactis*, *Leuc. mesenteroides* subsp. *cremoris*), O-Culture R-603 (Chr. Hansen; *L. lactis* subsp. *cremoris* i *L. lactis* subsp. *lactis*) oraz Nutriplant (preparat farmaceutyczny, monokultura *Lb. plantarum*).

Przed doświadczeniem kultury były ożywiane i namnażane w bulionie MRS (w przypadku pałeczek lub bifidobakterii) lub bulionie M17 (w przypadku paciorkowców). Namnażanie prowadzono przez 18 h w temp. 37°C (w przypadku termofilnych bakterii) lub w temp. 30°C (w przypadku kultur mezofilnych).

Skład modelowego soku żołądkowego przygotowano na podstawie publikacji Clavela i wsp. [1]. Przed sterylizacją pH soku doprowadzano do 2,4. Tuż przed wykonaniem doświadczeń, do bazy soku żołądkowego dodawano pepsynę (Sigma-Aldrich, preparat o mocy 3200-4500 jednostek na 1 mg białka) w ilości 1 mg na 50 cm<sup>3</sup> bazy soku żołądkowego. Źródłem cholesterolu w próbach był cholesterol o czystości chemicznej >99% (Sigma-Aldrich) na gorąco rozpuszczony w mieszaninie 99% etanolu i Tweenu 80, wymieszanych w proporcji 3:1.

Oznaczenia liczby bakterii, pomiar gęstości optycznej oraz stężenia cholesterolu dokonywano bezpośrednio przed i po inkubacji drobnoustrojów w soku żołądkowym z dodatkiem cholesterolu w ilości  $1 \pm 0,2$  g/dm<sup>3</sup> oraz w bulionie hodowlanych (MRS lub M17) z dodatkiem cholesterolu w ilości  $1 \pm 0,2$  g/dm<sup>3</sup>. Do wszystkich układów dodawano wcześniej ożywionej i namnożonej hodowli bakterii mlekowych, po czym prze-

trzymywano przez 3 h w temp. 37°C. Liczbę bakterii, osobno pałeczek i paciorkowców mlekowych, oznaczano metodą płytkową, odpowiednio w podłożu MRS agar lub M17 agar (Merck). Płytki z posiewami inkubowano w temp. 37°C przez 72 h (w przypadku termofilnych pałeczek mlekowych) lub w temp. 37°C przez 48 h (w przypadku termofilnych paciorkowców) albo w temp. 30°C przez 72 h (w przypadku bakterii mezofilnych), w warunkach tlenowych lub beztlenowych, w zależności od wymagań. Wyniki podawano w jednostkach tworzących kolonie (jtk) w przeliczeniu na 1 cm<sup>3</sup> hodowli. Pomiaru gęstości optycznej dokonywano spektrofotometrycznie, przy długości fali 620 nm, z użyciem spektrofotometru Helios Gamma (Thermo Elektron Corporation). Pomiar stopnia wiązania cholesterolu przez kultury badanych bakterii mlekowych dokonywano mierząc ubytek cholesterolu w płynie pochodzonym, po usunięciu komórek bakteryjnych metodą wirówkową (6000 rpm/g przez 10 min). Stężenie cholesterolu oznaczano testem enzymatycznym (Cholesterol RTU, BioMérieux) z użyciem spektrofotometru Helios Gamma (Thermo Elektron Corporation) przy długości fali 500 nm.

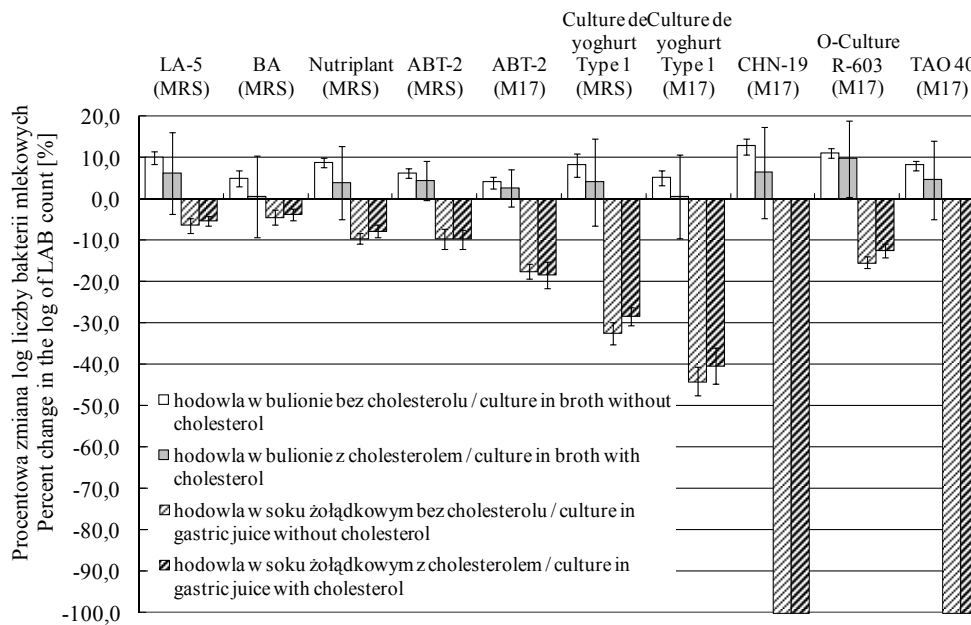
Analizę statystyczną (jednoczynnikowa i wieloczynnikowa ANOVA przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ ) przeprowadzono z wykorzystaniem programu komputerowego Statgraphics Plus 4.1.

## Wyniki i dyskusja

Bakterie fermentacji mlekowej tradycyjne stosowane do wyrobu mlecznych produktów fermentowanych są najczęściej uważane za słabo znoszące warunki przewodu pokarmowego. Tego typu badania, opisywane w dostępnej literaturze, odnoszą się tylko do pojedynczych szczepów, szczególnie probiotycznych. Dlatego trudno jest bezpośrednio odnieść wyniki badań, przedstawione w niniejszej pracy do danych literaturowych. Przeprowadzone badania wykazały, że najmniejszym spadkiem przeżywalności w modelowym soku żołądkowym o pH 2,4 charakteryzowała się szczepionka BA zawierająca w swoim składzie *Lb. rhamnosus* i *Bifidobacterium* sp. (rys. 1). Również niewielkim zmniejszeniem przeżywalności odznaczała się szczepionka La-5 zawierająca *Lb. acidophilus*. Pałeczki kwasu mlekowego i bifidobakterie, obecne z starterze ABT-2, nieco gorzej zniosły warunki modelowego soku żołądkowego. Podobną przeżywalność wykazywała monokultura *Lb. plantarum*, wchodząca w skład preparatu Nutriplant. W celu porównania, wyżej omówione kultury hodowane w próbach kontrolnych (bulionie MRS) wykazały się wzrostem liczby żywych komórek (rys. 1).

Należy zauważyć, że wszystkie wyżej wymienione szczepionki zawierały w swoim składzie kultury szczepów ogólnie uznanych za probiotyczne. Badania nad tolerancją kultur starterowych oraz kultur probiotycznych na modelowy sok żołądkowy prowadzili Vinderola i Reinheimer [10], którzy stwierdzili, że najbardziej opornym na niskie pH soku żołądkowego jest *Lb. acidophilus*. Również zmniejszenie przeżywalności szczepu *Bifidobacterium* sp. było niewielkie. Także badania Lankaputhra i Shah [6]

wskazują, że wiele szczepów bifidobakterii i *Lb. acidophilus* jest zdolnych do przeżycia na bardzo wysokim poziomie w warunkach symulujących pH soku żołądkowego.



Rys. 1. Procentowa zmiana liczby bakterii mlekowych po 3 h inkubacji w bulionie MRS (lub bulionie M17) lub w soku żołądkowym, bez dodatku lub z dodatkiem cholesterolu (wartości średnie i SD).

Fig. 1. The percent change in the number of lactic bacteria after the 3 h incubation in the MRS broth (or M17 broth) or in the gastric juice, without or with the addition of cholesterol (mean values and SD).

Pozostałe kultury badane w niniejszej pracy, a więc paciorkowce obecne w CHN-19, R-603, TAO 40, ABT-2, oraz pałeczki i paciorkowce mlekowe z Culture de yoghurt concentree Type 1, charakteryzowały się słabszą przeżywalnością w modelowym soku żołądkowym i porównywalnym wzrostem w próbach kontrolnych niż wcześniej omówione kultury. Warto zwrócić uwagę, że w tej grupie kultur znalazły się wszystkie badane paciorkowce mlekowe, a tylko paciorkowce z trzech szczepionek przeżyły w modelowym soku żołądkowym. Należą do nich mezofilne *L. lactis* subsp. *cremoris* i *L. lactis* subsp. *lactis*, ze szczepionki O-Culture R-603, oraz termofilne *S. thermophilus*, ze szczepionek ABT-2 i Culture de yoghurt concentree Type 1. Natomiast paciorkowce z kultur starterowych CHN-19 i TAO 40 nie wykazały żadnej oporności na kwaśne środowisko soku żołądkowego. Jak opisano w piśmiennictwie, szczepy niebędące probiotykami wykazują mniejszą przeżywalność w modelowym soku żołądkowym w porównaniu ze szczepami probiotycznymi [10]. Pereira i Gibson [9]

zaobserwowali silną redukcję liczby jednego szczepu *S. thermophilus* już po 15 min inkubacji w kwaśnym środowisku. Należy również zauważyć, że zarówno w piśmiennictwie, jak i w niniejszej pracy, występuje duża rozbieżność wyników dotyczących różnych szczepów tego samego gatunku. Przykładowo *S. thermophilus* obecne w szczepionce ABT-2 przeżywały w kwaśnym środowisku znacznie lepiej niż streptokoki obecne w szczepionce TAO 40 (rys. 1). Podobne zjawisko jest obserwowane u szczepów rodzaju *Lactobacillus* [2].

Analiza statystyczna przeprowadzona w niniejszej pracy wykazała brak wpływu obecności cholesterolu na stopień przeżywalności testowanych kultur, zarówno w modelowym soku żołądkowym, jak i w bulionach hodowlanych (tab. 1).

Tabela 1

Obliczone współczynniki P-value dwuczynnikowej analizy wariancji ( $\alpha \leq 0,05$ ).

Calculated P-values of the ANOVA two-factor analysis of variance ( $\alpha \leq 0.05$ ).

Kultura bakterii mlekowych (podłoże) LAB culture (medium)	P-value obliczone dla czynnika „dodatek cholesterolu” P-value calculated for the factor „the addition of cholesterol”	P-value obliczone dla czynnika „rodzaj podłoża” P-value calculated for the factor „the type of medium”
LA-5 (MRS)	0,6440	0,0010 *
BA (MRS)	0,5282	0,0453
Nutriplant (MRS)	0,5868	0,0004
ABT-2 (MRS)	0,5825	0,0000
ABT-2 (M17)	0,5074	0,0000
Culture de yoghurt Type 1 (MRS)	0,9849	0,0000
Culture de yoghurt Type 1 (M17)	0,9034	0,0000
CHN-19 (M17)	0,3539	0,0000
O-Culture R-603 (M17)	0,8108	0,0001
TAO 40 (M17)	0,5180	0,0001

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Cechy badane - dodatek cholesterolu i rodzaj podłoża; czynnik badany - procentowa zmiana log liczby bakterii mlekowych / Traits studied - the addition of cholesterol and the type of medium; depended variable/factor studied – percent change in the log of the LAB count;

\* Obliczona wartość P-value, wynosząca poniżej 0,05, wskazuje, że badany czynnik jest statystycznie istotny w przypadku badanej cechy przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  / The P-value calculated is less than 0.05, thus, it indicates that the depended variable/factor studied is statistically significant for the trait studied at a level of significance being 95.0%.

W dostępnej literaturze brak jest danych z tego zakresu. Wyjątkiem są badania Kimoto i wsp. [5], którzy na podstawie pomiaru gęstości optycznej hodowli stwierdzili, że obecność cholesterolu stymulowała wzrost komórek szczepu *L. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* N7.

Przeprowadzony w niniejszej pracy pomiar gęstości optycznej hodowli wykazał wzrost jej wartości we wszystkich przebadanych kulturach hodowanych w bulionach (rys. 2). W wielu przypadkach hodowli w modelowym soku żołądkowym występował przyrost mierzonej wartości, a nie spadek, co nie znajdowało odzwierciedlenia w liczbie komórek oznaczonych metodą płytkową. Różnice mogą wynikać z faktu, że w hodowlach obecne były martwe komórki bakteryjne, których nie można było wykryć metodą płytkową, i które powodowały wzrost wartości gęstości optycznej hodowli. W przypadkach, gdy gęstość optyczna malała, można przypuszczać, że komórki bakteryjne ulegały lizie.

Analiza statystyczna wykazała istotny wpływ dodatku cholesterolu i rodzaju podłoża na zmianę wartości gęstości optycznej niektórych hodowli (tab. 2), ale inny niż stwierdzili Kimoto i wsp. [5]. Można wnioskować, iż pomiar gęstości optycznej nie jest dobrą metodą określania wpływu cholesterolu na przeżywalność kultur bakterii kwasu mlekowego.

Tabela 2

Obliczone współczynniki P-value dwuczynnikowej analizy wariancji ( $\alpha \leq 0,05$ ).

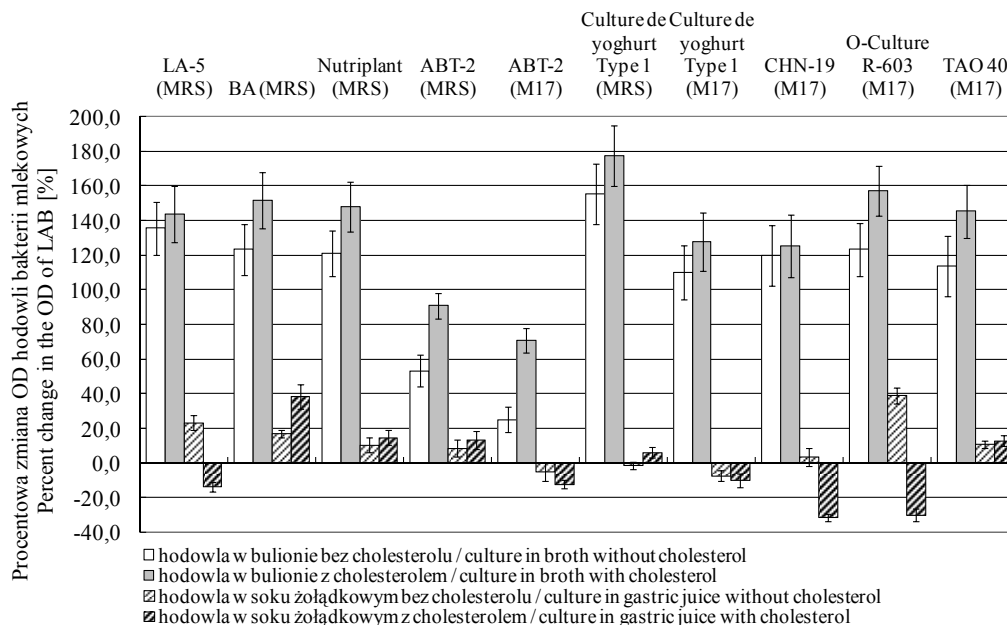
Calculated P-values of the ANOVA two-factor analysis of variance ( $\alpha \leq 0.05$ ).

Kultura bakterii mlekowych (podłoże) LAB culture (medium)	P-value obliczone dla czynnika „dodatek cholesterolu” P-value calculated for the factor „the addition of cholesterol”	P-value obliczone dla czynnika „rodzaj podłoża” P-value calculated for the factor „the type of medium”
LA-5 (MRS)	0,1729	0,0001 *
BA (MRS)	0,0037	0,0000
Nutriplant (MRS)	0,0427	0,0000
ABT-2 (MRS)	0,0110	0,0000
ABT-2 (M17)	0,0685	0,0002
Culture de yoghurt Type 1 (MRS)	0,0695	0,0000
Culture de yoghurt Type 1 (M17)	0,3375	0,0001
CHN-19 (M17)	0,1618	0,0000
O-Culture R-603 (M17)	0,3639	0,0000
TAO 40 (M17)	0,0651	0,0000

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Cechy badane - dodatek cholesterolu i rodzaj podłoża; czynnik badany - procentowa zmiana gęstości optycznej OD hodowli bakterii mlekowych / Traits studied - the addition of cholesterol and the type of medium; depended variable/factor studied – percent change in the OD of the LAB culture;

\* Obliczona wartość P-value, wynosząca poniżej 0,05, wskazuje, że badany czynnik jest statystycznie istotny w przypadku badanej cechy przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  / The P-value calculated is less than 0.05, thus, it indicates that the depended variable/factor studied is statistically significant for the trait studied at a level of significance being 95.0%.



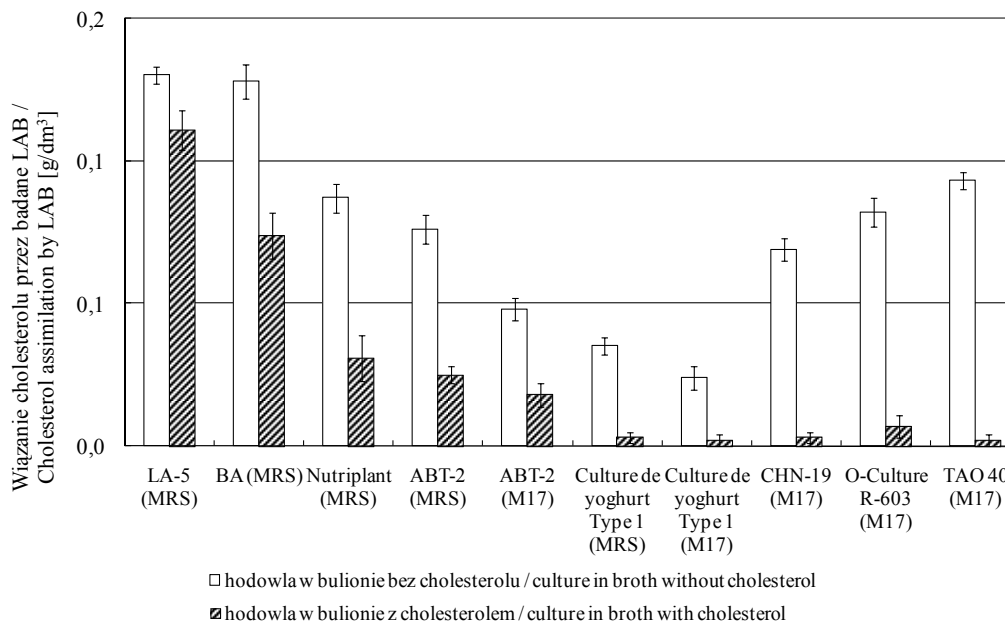
Rys. 2. Procentowa zmiana gęstości optycznej OD hodowli bakterii mlekowych po 3 h inkubacji w bulionie MRS (lub bulionie M17) lub w soku żołądkowym, bez lub z dodatkiem cholesterolu (wartości średnie i SD).

Fig. 2. The percent change in the optical density of the lactic bacteria culture after the 3 h incubation in the MRS broth (or M17 broth) or in the gastric juice, without or with the addition of cholesterol (means and SD).

Bakterie mlekowe, które zdołają przeżyć w środowisku przewodu pokarmowego, a szczególnie soku żołądkowego, mają szansę na probiotyczne oddziaływanie na organizm człowieka. Jednym z takich oddziaływań jest zdolność do wiązania cholesterolu. Zdolność ta w dużym stopniu zależy od żywotności komórek, chociaż również martwe komórki mogą przyłączać nieznaczne ilości cholesterolu [4, 5]. Z literatury wynika, że zdolność wiązania cholesterolu w warunkach *in vitro* wykazują nie tylko szczepy o cechach probiotycznych, ale również inne bakterie fermentacji mlekowej, tradycyjnie stosowane do produkcji wyrobów mleczarskich [3, 7, 8]. Należy jednak zaznaczyć, że naukowcy podkreślają znaczne różnice w zdolności wiązania cholesterolu pomiędzy różnymi szczepami tego samego gatunku.

W niniejszej pracy oznaczano zdolność wiązania cholesterolu przez jedno- i wielogatunkowe mleczarskie kultury starterowe, co nie znajduje zbyt wielkiego potwierdzenia w danych literaturowych, które zazwyczaj opisują badania pojedynczych szczepów, szczególnie probiotycznych. Zupełną innowacją w tej sferze jest badanie zdolności wiązania cholesterolu w warunkach modelowego soku żołądkowego (rys. 3). Bada-

nia wykazały, że kultury bakterii mlekowych statystycznie istotnie więcej cholesterolu wiązały w bulionie hodowlanym niż w modelowym soku żołądkowym (tab. 3).



Rys. 3. Wiązanie cholesterolu przez badane kultury bakterii mlekowych podczas 3 h inkubacji w bulionie MRS (lub bulionie M17) z dodatkiem cholesterolu lub w soku żołądkowym z dodatkiem cholesterolu (wartości średnie i SD).

Fig. 3. The assimilation of cholesterol by the lactic bacteria studied during the 3 h incubation in the MRS broth (or M17 broth) with the addition of cholesterol or in the gastric juice with the addition of cholesterol (mean values and SD).

Największą ilość cholesterolu w modelowym soku żołądkowym w ciągu 3 h inkubacji związały szczepionki zawierające typowo probiotyczne szczepy bakterii mlekowych. Należą do nich kultury LA-5 ( $0,11 \pm 0,007 \text{ g/dm}^3$ ) oraz BA ( $0,07 \pm 0,008 \text{ g/dm}^3$ ). Niższą wartością charakteryzowały się: preparat Nutriplant ( $0,031 \pm 0,008 \text{ g/dm}^3$ ) oraz kultura ABT-2 ( $0,03 \pm 0,003 \text{ g/dm}^3$ , po namnożeniu w bulionie MRS oraz  $0,02 \pm 0,004 \text{ g/dm}^3$ , po namnożeniu w bulionie M17). Omawiane kultury odznaczały się jednocześnie wysoką przeżywalnością w modelowym soku żołądkowym. Natomiast pozostałe szczepionki: Culture de yoghurt concentree Type 1, CHN-19, O-Culture R-603 i TAO 40, wiązały niewiele cholesterolu w soku żołądkowym ( $0,002\text{--}0,007 \text{ g/dm}^3$ ). Kultury te odznaczały się niską przeżywalnością w zastosowanych warunkach. Należy również zauważyć, że w niniejszej pracy stwierdzono rozbieżność wyników dotyczących różnych kultur tego samego gatunku. Przykładowo, *S. thermophilus*, ze szczepionki ABT-2, wiązały znacznie więcej cholesterolu niż streptokoki ze szczepionki TAO 40. Prawdopodobnie różnice wynikały z obecności różnych



szczepów streptokoków w tych kulturach starterowych oraz innym stopniem ich przeżywalności w zastosowanych układach modelowych.

Tabela 3

Obliczone współczynniki P-value jednoczynnikowej analizy wariancji ( $\alpha \leq 0,05$ ).

The calculated P-values of the ANOVA one factor analysis of variance ( $\alpha \leq 0.05$ ).

Kultura bakterii mlekowych (podłoże) LAB culture (medium)	Obliczone P-value Calculated P-value
LA-5 (MRS)	0,0124 *
BA (MRS)	0,0007
Nutriplant (MRS)	0,0005
ABT-2 (MRS)	0,0001
ABT-2 (M17)	0,0008
Culture de yoghurt Type 1 (MRS)	0,0001
Culture de yoghurt Type 1 (M17)	0,0010
CHN-19 (M17)	0,0001
O-Culture R-603 (M17)	0,0001
TAO 40 (M17)	0,0000

Objaśnienia: / Explanatory notes:

Cecha badana - rodzaj podłoża; czynnik badany - wiązanie cholesterolu przez LAB / Trait studied - the type of medium; depended variable/factor studied - assimilation of cholesterol by LAB;

\* Obliczona wartość P-value, wynosząca poniżej 0,05, wskazuje, że badany czynnik jest statystycznie istotny w przypadku badanej cechy przy poziomie istotności  $\alpha = 0,05$  / The calculated P-value is less than 0.05, thus, this indicates that the depended variable/factor studied is statistically significant at a level of significance being 95.0%.

Przeprowadzone badania pozwalają stwierdzić, że zdolność do usuwania cholesterolu przez mleczarskie kultury starterowe jest uwarunkowana wieloma czynnikami. W dużym stopniu ważny jest skład gatunkowy szczepionki. Szczepionki zawierające gatunki probiotyczne w większym stopniu są zdolne do przeżycia niekorzystnego środowiska przewodu pokarmowego i wywołania omawianego efektu probiotycznego. Natomiast szczepionki złożone z gatunków tradycyjnie stosowanych do fermentacji mleka mogą mieć takie oddziaływanie, ale w środowiskach bardziej optymalnych.

### Wnioski

1. Badane kultury bakterii kwasu mlekowego wykazują różną zdolność przeżywania w modelowym soku żołądkowym oraz wiązania cholesterolu w tych warunkach.
2. Większą opornością na warunki modelowego soku żołądkowego wykazują probiotyczne szczepy bakterii mlekowych niż tradycyjne bakterie mlekowe.
3. W warunkach modelowego soku żołądkowego kultury starterowe bakterii kwasu mlekowego, tradycyjnie stosowane do fermentacji mleka, charakteryzują się mniej-

szym wiązaniem cholesterolu niż kultury zawierające probiotyczne szczepy bakterii mlekowych.

*Praca była prezentowana podczas VIII Konferencji Naukowej nt. „Żywność XXI wieku – Żywność a choroby cywilizacyjne”, Kraków, 21–22 czerwca 2007 r.*

### Literatura

- [1] Clavel T., Carlin F., Lairon D., Nguyen-The C., Schmitt P.: Survival of *Bacillus cereus* spores and vegetative cells in acid media simulating human stomach. *J. Appl. Microbiol.*, 2004, **97**, 214-219.
- [2] Corcoran B.M., Stanton C., Fitzgerald G.F.: Survival of probiotic lactobacilli in acidic environments is enhanced in the presence of metabolizable sugars. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2005, **71**, 3060-3067.
- [3] Grill J.P., Cayuela C., Antoine J.M., Schneider F.: Effects of *Lactobacillus amylovorus* and *Bifidobacterium breve* on cholesterol. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2000, **31**, 154-156.
- [4] Hosono A., Tono-Oka T.: Binding of cholesterol with lactic acid bacterial cells. *Milchwissenschaft*, 1995, **50**, 556-559.
- [5] Kimoto H., Ohmomo S., Okamoto T.: Cholesterol removal from media by lactococci. *J. Dairy Sci.*, 2002, **85**, 3182-3188.
- [6] Lankaputhra W.E., Shah N.P.: Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* in the presence of acid and bile salts. *Cult. Dairy Prod. J.*, 1995, **30**, 2-6.
- [7] Lin M.Y., Chen T.W.: Reduction of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus* in culture broth. *J. Food Drug Anal.*, 2000, **8**, 97-102.
- [8] Noh D.O., Kim S.H., Gilliland S.E.: Incorporation of cholesterol into the cellular membrane of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121. *J. Dairy Sci.*, 1997, **80**, 3107-3113.
- [9] Pereira D.I.A., Gibson G.R.: Cholesterol assimilation by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from the human gut. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, **68**, 4689-4693.
- [10] Vinderola C.G., Reinheimer J.A.: Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative *in vitro* study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. *Food Res. Int.*, 2003, **36**, 895-904.

### RESEARCH INTO THE ABILITY OF SOME SELECTED STARTER LACTIC ACID BACTERIA (SLAB) TO SURVIVE IN A MODEL GASTRIC JUICE AND CHOLESTEROL BINDING UNDER THOSE THESE CONDITIONS

#### Summary

The objective of this research was to determine the ability of some selected lactic acid bacteria to survive in a model gastric juice and in a culture broth. Moreover, their cholesterol binding ability under those conditions was investigated. For the purpose of comparing, the viability of lactobacilli contained obtained from a 'Nutriplant' pharmaceutical preparation was examined.

It was proved that the probiotic strains (obtained from the starter cultures: BA, LA-5, Nutriplant pharmaceutical preparation, and lactobacilli & bifidobacteria from ABT-2) had better viability in the model gastric juice, and they bound more cholesterol under those conditions than the traditional starters (present in the starter cultures such as: Culture de yoghurt concentree Type 1, CHN-19, TAO 40, O-Culture R-603, and streptococci from ABT-2). In the model gastric juice, the highest amount of cholesterol was binding by

bacteria from the starter cultures of LA-5 ( $0.11 \text{ g/dm}^3$ ), BA ( $0.07 \text{ g/dm}^3$ ), ABT-2 ( $0.03 \text{ g/dm}^3$  in the case of lactobacilli and bifidobacteria, and  $0.02 \text{ g/dm}^3$  in the case of streptococci), as well as by bacteria from the Nutriplant pharmaceutical preparation ( $0.03 \text{ g/dm}^3$ ). Others starter cultures assimilated only very slight amounts of cholesterol ( $0.002\text{-}0.007 \text{ g/dm}^3$ ). The cholesterol binding was better in the MRS or M17 broth than in the model gastric juice.

**Key words:** lactic acid bacteria, starter cultures, viability, gastric juice, cholesterol binding 