

JOANNA LE THANH-BLICHAZ<sup>1</sup>, MARIA KRASOWSKA<sup>2</sup>, JACEK ANIOŁA<sup>3</sup>,  
RADOSŁAW SZYNGWELSKI<sup>2</sup>, MAŁGORZATA TUBACKA<sup>3</sup>, GRAZYNA LEWANDOWICZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie  
Oddział Koncentratów Spożywczych i Produktów Skrobiowych w Poznaniu

<sup>2</sup>Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

<sup>3</sup>Katedra Higieny Żywienia Człowieka  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

## SKROBIA MODYFIKOWANA FIZYCZNIE JAKO ŹRÓDŁO WĘGLA DLA *BIFIDOBACTERIUM* SP. W BADANIACH *IN VITRO* ORAZ *IN VIVO*

**Streszczenie.** Celem pracy była ocena właściwości prebiotycznych skrobi modyfikowanej fizycznie w drodze wysokociśnieniowej homogenizacji kleiku. W badaniach *in vitro* prowadzono hodowlę wybranych szczepów rodzaju *Bifidobacterium* w standardowej pożywce MRS, w której jako źródło węgla stosowano alternatywnie: glukozę, maltodekstrynę, niemodyfikowaną skrobię ziemniaczaną oraz skrobię modyfikowaną. Kontrolę ujemną stanowiła pożywka MRS, do której nie wprowadzono żadnego sacharydu. W toku hodowli określano: liczebność mikroorganizmów, tempo, w jakim asymilowały one cukry, oraz ilość wytwarzanych przez nie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych. W badaniach *in vivo* porównywano liczebność *Bifidobacterium* sp. w treści jelita ślepego szczurów spożywających karmę zawierającą skrobię modyfikowaną oraz wstępnie kleikowaną skrobię natywną. Stwierdzono, że skrobia modyfikowana fizycznie wykazuje właściwości prebiotyczne zbliżone do znanych analogów skrobi opornej na działanie enzymów amylolytycznych.

**Słowa kluczowe:** skrobia, modyfikacja fizyczna, prebiotyk, *Bifidobacterium* sp.

### Wstęp

Bakterie rodzaju *Bifidobacterium* (łac. *bifidus* – rozdwojony), należące do rodziny *Actinomycetaceae*, znane są z korzystnego wpływu, jaki wywierają na organizm człowieka. Są to gramodatnie, ściśle beztlenowe pałeczki, odznaczające się budową pleomorficzną. Ich komórki – zależnie od składu pożywki i warunków wzrostu – przybierają

różnorodne formy, z których najpowszechniej spotyka się kształt litery V, Y, nitki, nawet bardzo rozgałęzionej, czy buławki (JAŁOSIŃSKA 2006, SCHLEGEL 2000, ZIAJKA i DZWOLAK 2004). Do rodzaju *Bifidobacterium* zalicza się 29 gatunków i 6 podgatunków (JAŁOSIŃSKA 2006, MOLSKA 1988, SCHLEGEL 2000). Naturalnym środowiskiem bytowania tych bakterii jest przewód pokarmowy ludzi i zwierząt, choć izolowano je również z błon śluzowych jamy ustnej, spróchniałych zębów, wydzieliny z pochwy, materiału roślinnego i ścieków (ZIAJKA i DZWOLAK 2004). W jelitach człowieka zidentyfikowano dotąd łącznie 14 gatunków *Bifidobacterium* sp., przy czym za najpowszechniej występujące uznaje się *Bif. adolescentis*, *Bif. angulatum*, *Bif. bifidum*, *Bif. brevis*, *Bif. catenulatum*, *Bif. longum* i *Bif. infantis*. Gatunki: *Bif. infantis*, *Bif. brevis* i *Bif. longum* stanowią największą grupę bakterii jelitowych u niemowląt, podczas gdy u ludzi dorosłych są one trzecią lub czwartą pod względem liczebności grupą bakterii i stanowią tylko 3-6% flory jelitowej. Oszacowano, że w 1 g treści jelitowej człowieka liczebność *Bifidobacterium* sp. mieści się w granicach od  $8 \times 10^4$  do  $2,5 \times 10^{13}$  komórek (LIBUDZISZ 1999).

Mianem prebiotyków określa się odporne na działanie enzymów trawiennych składniki żywności korzystnie oddziałujące na funkcjonowanie organizmu gospodarza poprzez selektywną stymulację wzrostu i/lub aktywności jednego lub kilku rodzajów bakterii obecnych w jego okrężnicy (GIBSON i ROBERFROID 1995, GIBSON 2004). Prebiotyki stosowane w produkcji żywności bardzo często pełnią również szereg innych funkcji technologicznych, np. są doskonałymi emulgatorami czy zagęstnikami. Różnorodność substancji potencjalnie prebiotycznych pozostających w dyspozycji technologa stwarza jednak potrzebę wiarygodnej oceny ich właściwości. W tym celu stosuje się zarówno metody *in vitro*, jak i *in vivo*, ale do tej pory nie dopracowano się ogólnie przyjętego standardu tego typu badań. Wśród metod *in vitro* na szczególną uwagę zasługuje koncepcja indeksu prebiotycznego opisana w pracach zespołu VULEVIC i IN. (2004).

Szczególnym rodzajem związków o właściwościach prebiotycznych są bez wątpienia skrobie odporne na enzymy amylolityczne, m.in. skrobie RS (ang. *resistant starch*) i skrobie wolno trawione (SORAL-ŚMIETANA i WRONKOWSKA 2004). Wcześniejsze badania wykazały, że proces wysokociśnieniowej homogenizacji kleiku jest sposobem otrzymania rozpuszczalnego w zimnej wodzie produktu o strawności zmniejszonej o 50%, efektywnie przyswajanego *in vitro* przez bakterie rodzaju *Lactobacillus* (LE THANH i IN. 2008). Celem pracy była ocena, *in vitro* oraz *in vivo*, przyswajalności skrobi modyfikowanej fizycznie przez wybrane szczepy rodzaju *Bifidobacterium*.

## Material i metody

Materiał badawczy stanowiła skrobia ziemniaczana modyfikowana fizycznie w drodze wysokociśnieniowej homogenizacji kleiku. Homogenizację 5-procentowych kleików skrobiowych prowadzono za pomocą homogenizatora Niro Soavi (Włochy), a otrzymane homogenizaty suszono za pomocą suszarki rozpyłowej Mobile Miner<sup>TM</sup> 2000 (Niro A/S). Skrobia homogenizowana wykazywała strawność *in vitro* definiowaną jako ułamek ilości glukozy wytworzonej (w stosunku do teoretycznie możliwej do wytworzenia) po 16-godzinnej inkubacji kleików skrobi homogenizowanej z  $\alpha$ -amylazą

trzustkową i amyloglukozydazą w temperaturze 37°C. Jako materiał odniesienia zastosowano preparat skrobi wstępnie kleikowanej o nazwie handlowej Solamyl, wykazujący strawność 100-procentową, produkowany przez Przedsiębiorstwo Produkcyjno-Handlowo-Usługowe Chemet Sp. z o.o. (Plewiska koło Poznania), jak również maltodekstrynę niskoscukrzoną (DE = 4,9) wyprodukowaną przez Przedsiębiorstwo Przemysłu Ziemiaczanego w Łobzie.

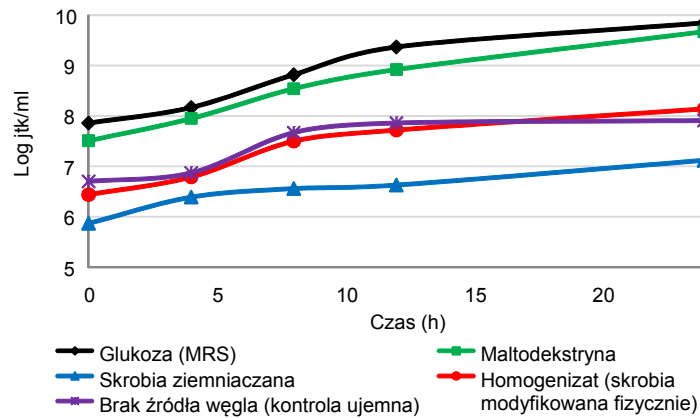
Badania *in vitro* prowadzono z wykorzystaniem następujących szczepów rodzaju *Bifidobacterium*, pochodzących z National Collection of Food Bacteria (Reading, Wielka Brytania): *Bif. bifidum* NCFB nr 1453, *Bif. breve* NCFB nr 2257 i *Bif. longum* NCFB nr 2259. Badano przebieg wzrostu tych mikroorganizmów w warunkach beztlenowych, w pożywce zawierającej zmodyfikowane źródło węgla (liczebność bakterii oznaczano metodą płytkową Kocha), określano tempo wykorzystywania przez nie cukrów (spektrofotometrycznie – poprzez określenie ilości wytworzonej glukozy po uprzedniej hydrolizie badanych próbek) i ilość biosyntetyzowanych krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych, ang. SCFA (z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC; identyfikacji ilościowej i jakościowej dokonano metodą standardu zewnętrznego z wykorzystaniem powierzchni pików – pomiar i integracja komputerowa). Przez pożywkę ze zmodyfikowanym źródłem węgla rozumiano standardową pożywkę MRS według Mana i Rogosa, w której glukozę zastąpiono odpowiednio skrobią modyfikowaną fizycznie (strawność 50%), natywną skrobią ziemniaczaną (strawność 100%) lub maltodekstryną niskoscukrzoną (DE = 4,9, strawność 100%). Kontrolę ujemną stanowiła pożywka nie zawierająca źródła węgla.

W badaniach *in vivo* izolowano mikroorganizmy z treści jelita cienkiego szczurów rasy wistar skarmianych przez 16 dni skrobią Solamyl (S) oraz skrobią modyfikowaną fizycznie (HOM). Doświadczenie zrealizowano za zgodą Lokalnej Komisji Etycznej nr 23/2008. Przynależność do rodzaju *Bifidobacterium* izolatów wyrosłych w atmosferze beztlenowej na podłożu TPY (RADA i PETER 2000) potwierdzano poprzez wykrywanie obecności aktywnej ketolazy fruktozo-6-fosforanowej w ich ekstraktach komórkowych (ORBAN i PETERSON 2000).

## Wyniki i dyskusja

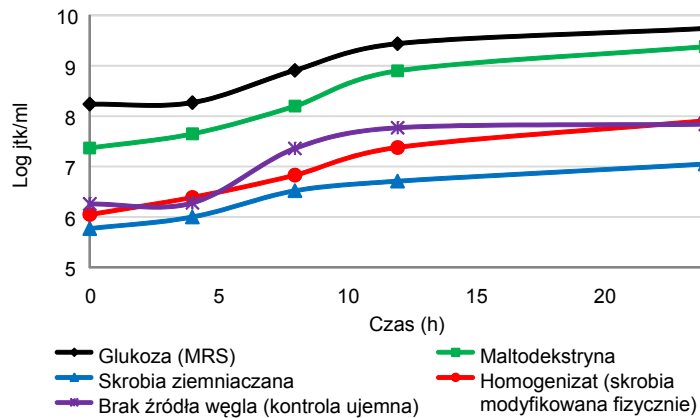
### Wzrost *Bifidobacterium* sp. w warunkach *in vitro* w zależności od źródła węgla

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że niezależnie od zastosowanego źródła węgla przebieg krzywych wzrostu *Bifidobacterium* sp. był podobny. W przyjętym czasie trwania eksperymentu odnotowano następujące fazy ich rozwoju: lagfazę, fazę wzrostu wykładniczego oraz fazę stacjonarną, nie zaobserwowano natomiast fazy zamierania (rys. 1, 2, 3). Podobny przebieg krzywych wzrostu *Bif. animals*, *Bif. longum* i *Bif. breve* w pożywkach zawierających alternatywnie glukozę, laktozę lub galaktozę zaobserwowali HE i IN. (2007). Krzywa wzrostu bakterii *Bifidobacterium* sp. w pożywce zawierającej glukozę (rys. 2 i 3) miała charakter sigmoidalny, a maksymalna liczebność komórek kształtowała się na poziomie od 9,7 log jtk/ml dla *Bif. bifidum* do 10,07 log jtk/ml dla *Bif. longum*. Najbardziej typowy przebieg krzywych wzrostu bakterii,



Rys. 1. Wzrost *Bifidobacterium breve* w bulionie MRS w zależności od źródła węgla

Fig. 1. Growth of *Bifidobacterium breve* in MRS broth depending on the carbon source

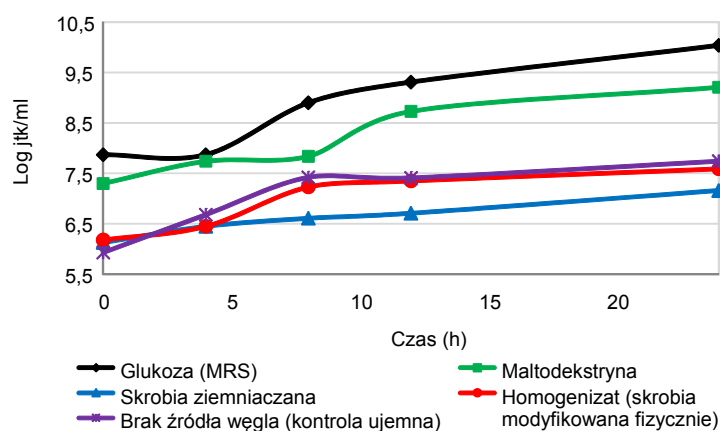


Rys. 2. Wzrost *Bifidobacterium bifidum* w bulionie MRS w zależności od źródła węgla

Fig. 2. Growth of *Bifidobacterium bifidum* in MRS broth depending on the carbon source

w którym wyodrębniono wymienione wyżej trzy fazy, zaobserwowano podczas hodowli *Bif. breve* i *Bif. bifidum* w pożywkach nie zawierających żadnego źródła węgla (rys. 1 i 2). Maksymalna liczebność komórek, jaką osiągnięto w tym przypadku, była znacznie mniejsza w porównaniu z liczebnością komórek w pożywkach z dodatkiem poliglukanów skrobiowych i zmieniała się od 7,7 do 7,9 log jtk/ml. Dodatkowo, w pożywce pozbawionej źródła węgla nie wyodrębniono wyraźnie fazy adaptacyjnej populacji komórek *Bif. longum* (rys. 3).

Le Thanh-Blicharz J., Krasowska M., Anioła J., Szyngwelski R., Tubacka M., Lewandowicz G., 2010. Skrobia modyfikowana fizycznie jako źródło węgla dla *Bifidobacterium* sp. w badaniach *in vitro* oraz *in vivo*. Nauka Przyr. Technol. 4, 2, #25.



Rys. 3. Wzrost *Bifidobacterium longum* w bulionie MRS w zależności od źródła węgla

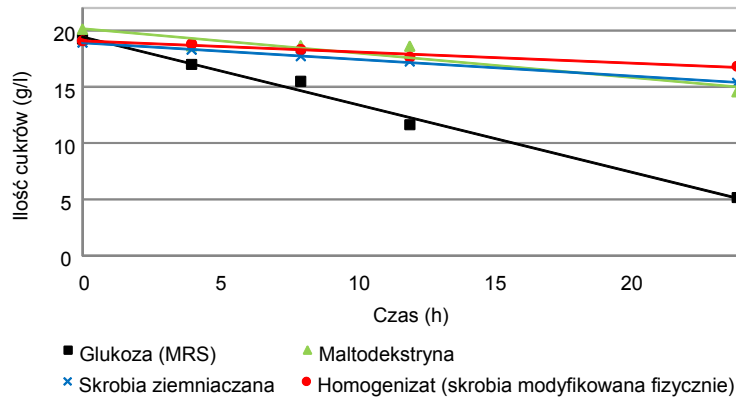
Fig. 3. Growth of *Bifidobacterium longum* in MRS broth depending on the carbon source

Duże liczebności wszystkich trzech badanych szczepów obserwowano również w pożywce z maltodekstryną (od 9,3 log jtk/ml dla *Bif. longum* do 9,9 log jtk/ml dla *Bif. breve*). Homogenizat użyty jako źródło węgla pozwalał na uzyskanie większych liczebności *Bifidobacterium* sp., z kolei najmniejsze ich liczebności odnotowano w pożywkach zawierających jako źródło węgla skrobię ziemniaczaną (7,0-7,8 log jtk/ml) (rys. 1, 2, 3). Podobne obserwacje poczynili WRONKOWSKA i IN. (2006) w odniesieniu do szczepów *Bif. animals*, *Bif. psuedolongum* i *Bif. breve* rosnących w obecności natywnej skrobi: pszennej i grochowej oraz w uzyskanych na ich bazie preparatach RS. W większości przypadków nieistotnie większe, w porównaniu z pożywkami z natywną skrobią, liczebności komórek uzyskiwano w hodowlach zawierających preparaty RS, niemniej jednak populacje bakterii pozostawały mniej liczne niż w pożywkach z glukozą.

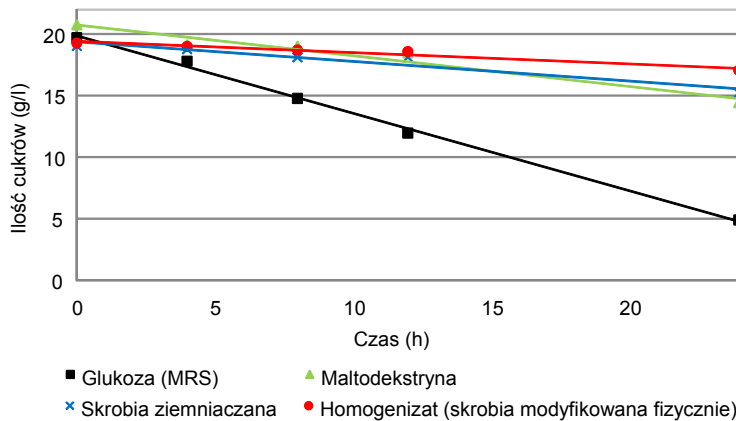
#### Badanie tempa wykorzystania cukrów przez bakterie rodzaju *Bifidobacterium*

Największe tempo utylizacji cukrów przez badane szczepy zaobserwowano w bulionie MRS z glukozą (rys. 4, 5, 6). Stężenie cukrów ulegało równomiernemu osłabieniu przez cały czas trwania hodowli: od wartości początkowej 19,72 g/l do 4,9 g/l dla *Bif. bifidum*, od 19,25 g/l do 5,16 g/l dla *Bif. breve* i od 19,05 g/l do 5,5 g/l dla *Bif. longum*. Fakt ten można tłumaczyć tym, że glukoza jest najłatwiej przyswajalnym przez bakterie źródłem węgla.

W trakcie prac doświadczalnych odnotowano mniejszą dynamikę wykorzystania maltodekstryny – stężenie tego cukru w ostatniej godzinie hodowli bakterii kształtowało się na poziomie 14 g/l. Tempo asymilacji cukrów przez *Bifidobacterium* sp. zmieniło się za to diametralnie w pożywkach z dodatkiem wysokocząsteczkowych źródeł węgla. Zarówno w przypadku natywnej skrobi ziemniaczanej, jak i homogenizatu utylizacja cukrów przebiegała bardzo wolno. Nachylenie prostej, będące miarą przystosowania *Bifidobacterium* sp. do danego źródła węgla (tab. 1) i tym samym miarą tempa jego



Rys. 4. Tempo asymilacji cukrów przez *Bifidobacterium breve* podczas wzrostu w bulionie MRS w zależności od źródła węgla  
 Fig. 4. Rate of sugar assimilation by *Bifidobacterium breve* during growth in MRS broth depending on the carbon source

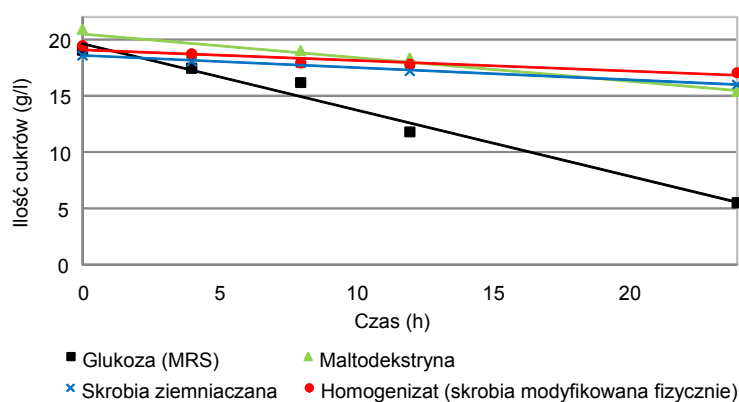


Rys. 5. Tempo asymilacji cukrów przez *Bifidobacterium bifidum* podczas wzrostu w bulionie MRS w zależności od źródła węgla  
 Fig. 5. Rate of sugar assimilation by *Bifidobacterium bifidum* during growth in MRS broth depending on the carbon source

wykorzystania, pozwoliło uszeregować badane cukry w następującym porządku: maltodekstryna > skrobia ziemniaczana > homogenizat.

Powyższe rezultaty wskazują też, iż obecność w pożywce wysokocząsteczkowego źródła węgla stwarza warunki stresowe dla wprowadzonych do niej mikroorganizmów. Może to być wywołane zarówno koniecznością rozpoczęcia przez bakterie biosyntezy enzymów amylolytycznych, jak i zwiększeniem lepkości podłoża, co utrudnia wymianę masy: dostęp składników pokarmowych do komórek mikroorganizmów i usuwanie z nich wytworzonych metabolitów.

Le Thanh-Blicharz J., Krasowska M., Anioła J., Szyngwelski R., Tubacka M., Lewandowicz G., 2010. Skrobia modyfikowana fizycznie jako źródło węgla dla *Bifidobacterium* sp. w badaniach *in vitro* oraz *in vivo*. Nauka Przyr. Technol. 4, 2, #25.



Rys. 6. Tempo asymilacji cukrów przez *Bifidobacterium longum* podczas wzrostu w bulionie MRS w zależności od źródła węgla  
 Fig. 6. Rate of sugar assimilation by *Bifidobacterium longum* during growth in MRS broth depending on the carbon source

Tabela 1. Współczynniki nachylenia prostych (tg  $\alpha$ ) obrazujących wykorzystanie cukrów podczas wzrostu *Bifidobacterium* sp. w pożywkach zawierających różne źródła węgla

Table 1. Tangent coefficients (tg  $\alpha$ ) of the lines representing sugar uptake during growth of *Bifidobacterium* sp. in media containing different carbon sources

Źródło węgla	<i>Bif. bifidum</i>	<i>Bif. breve</i>	<i>Bif. longum</i>
Glukoza	0,63	0,60	0,59
Maltodekstryna	0,25	0,22	0,21
Skrobia ziemniaczana	0,16	0,15	0,11
Homogenizat	0,09	0,10	0,09
Brak	0,01	0,01	0,01

### Produkcja krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych

Zdolność syntezy krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych jako produktów fermentacji jest jednym z wyznaczników probiotycznych właściwości bakterii (LIBUDZISZ 2006). W tabeli 2 zestawiono ilości krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych obecnych w bulionie MRS w 24. godzinie hodowli. Głównymi metabolitami badanych szczepów były kwasy: mlekowy i octowy.

Stężenia krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w hodowli *Bifidobacterium* sp. w klasycznej pożywce MRS zmieniały się w sposób odzwierciedlający przebieg ich wzrostu. W początkowym okresie, podczas fazy adaptacyjnej, w podłożu dominował kwas octowy, który w czasie fazy wzrostu wykładniczego był utylizowany przez bakterie, po czym rozpoczynała się synteza kwasu mlekowego. W fazie stacjonarnej nastąpiła stabilizacja zawartości kwasu octowego, natomiast intensywnie był produkowany kwas mlekowy, tak by w 24. godzinie hodowli osiągnąć stężenie około 7,5 g/l.

Tabela 2. Ilości krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych wydzielonych do podłoża przez bakterie rodzaju *Bifidobacterium* w 24-godzinnej hodowli w bulionie MRS z glukozą oraz z alternatywnymi źródłami węgla

Table 2. Amounts of short chain fatty acids released to the medium by the bacteria of *Bifidobacterium* genus during the 24-hour culture in MRS broth containing glucose or alternate carbon sources

Źródło węgla	Kwas mlekowy		Kwas octowy		Σ SCFA (g/l)
	g/l	%	g/l	%	
<i>Bifidobacterium bifidum</i>					
Glukoza	13,58 ±0,01	87,16	2,00 ±0,01	12,84	15,58
Maltodekstryna	4,76 ±0,03	68,69	2,17 ±0,02	31,31	6,93
Skrobia ziemniaczana	0,90 ±0,01	25,28	2,66 ±0,04	74,72	3,56
Homogenizat	0,95 ±0,02	32,76	1,95 ±0,01	67,24	2,90
Brak	0,92 ±0,02	30,07	2,14 ±0,02	69,93	3,06
<i>Bifidobacterium breve</i>					
Glukoza	7,48 ±0,02	77,19	2,21 ±0,04	22,81	9,69
Maltodekstryna	4,45 ±0,01	54,40	3,73 ±0,04	45,60	8,18
Skrobia ziemniaczana	0,49 ±0,02	11,95	3,61 ±0,01	88,05	4,10
Homogenizat	0,63 ±0,03	15,14	3,53 ±0,02	84,86	4,16
Brak	0,21 ±0,01	12,43	1,48 ±0,01	87,57	1,69
<i>Bifidobacterium longum</i>					
Glukoza	16,25 ±0,04	88,56	2,10 ±0,01	11,44	18,35
Maltodekstryna	4,65 ±0,02	65,59	2,44 ±0,02	34,41	7,09
Skrobia ziemniaczana	0,39 ±0,01	16,12	2,03 ±0,01	83,88	2,42
Homogenizat	0,42 ±0,01	15,85	2,23 ±0,01	84,15	2,65
Brak	0,48 ±0,02	18,32	2,14 ±0,03	81,68	2,62

### Badania *in vivo*

Pomimo powszechnej opinii, iż błonnik pokarmowy i skrobia oporna na enzymy amylolityczne są częściowo lub też w całości fermentowane w jelicie grubym, doniesienia literaturowe dotyczące tego typu badań prowadzonych *in vivo* są nieliczne, a ich wyniki niejednokrotnie sprzeczne. Początkowe badania LE BLAY i IN. (1999) wskazywały na bifidogeny charakter fruktooligosachardów (FOS), czego nie potwierdzono w badaniach BIELECKIEJ i IN. (2002). Ten ostatni zespół badaczy wykazał, że u szczurów rasy wistar karmionych niestrawnymi oligosacharydami (FOS – fruktooligosacharydy, LAC – laktuloza, DEX – dekstryna kukurydziana, RS – skrobia oporna kukurydziana) wzrost liczebności *Bifidobacterium* występował tylko w przypadku wzbogacenia diety zwierząt w LAC i RS. Ponadto okazało się, że całkowita liczebność bakterii beztlenowych w jelitach nie ulegała większym zmianom, utrzymując się w każdym z badanych przypadków na wysokim poziomie, około 8,5 log jtk/ml. Wymienieni auto-



Le Thanh-Blicharz J., Krasowska M., Anioła J., Szyngwelski R., Tubacka M., Lewandowicz G., 2010. Skrobia modyfikowana fizycznie jako źródło węgla dla *Bifidobacterium* sp. w badaniach *in vitro* oraz *in vivo*. Nauka Przyr. Technol. 4, 2, #25.

rzy uzyskane wyniki tłumaczyli młodym wiekiem szczurów i tym samym dużą liczebnością mikroflory w treści ich jelit jeszcze przed karmieniem zadaną dietą, co mogło mieć istotny wpływ na oczekiwany efekt stymulacji. Hipoteza ta nie musi być jednak słuszna, ponieważ podobne wyniki uzyskali QUERIOZ-MONICI i IN. (2005) po podaniu dorosłym szczurom diet zawierających rośliny strączkowe i charakteryzujących się dużą, acz różną zawartością RS (fasola: RS ~13,0 g w 100 g, groch: RS ~12,8 g w 100 g, ciecierzycza: RS ~14,5 g w 100 g i soczewica: RS ~14,0 g w 100 g). Oznaczenia liczebności mikroflory jelitowej wykonywane w 28. dobie trwania eksperymentu również wykazały, że populacja *Bifidobacterium* sp., bez względu na rodzaj diety, nie uległa znaczącym zmianom. Jedynie w przypadku diety z zawartością grochu (ze wszystkich badanych substratów najmniejsza zawartość RS) odnotowano niewielki wzrost liczebności tej grupy mikroorganizmów (QUERIOZ-MONICI i IN. 2005). Na trudności metodologiczne związane z eksperymentami *in vivo* wskazują też w swojej pracy CHUNG i IN. (2007) – z ich badań wynika, że suplementacja ksylooligosacharydami ma wpływ na liczebność mikroflory jelitowej u człowieka dopiero po upływie trzech tygodni od spożycia diety zawierającej tę grupę cukrów.

Badania *in vitro* zrealizowane w ramach niniejszej pracy wykazały, że skrobia modyfikowana fizycznie może stanowić źródło węgla dla *Bifidobacterium* sp. Wyniki doświadczenia przedstawiono w tabeli 3. W eksperymencie wykazano, że w treści jelita ślepego szczurów karmionych dietą z dodatkiem skrobi modyfikowanej (H1÷H3) liczebność *Bifidobacterium* sp. była nieco większa w porównaniu z liczebnością tej grupy mikroorganizmów wykrytych w treści jelita ślepego szczurów skarmianych skrobią niemodyfikowaną (S1÷S3). Powyższe wyniki badań *in vivo* wstępnie potwierdzają uzyskane wcześniej rezultaty eksperymentów *in vitro*. Zatem można wnioskować, że modyfikacja fizyczna kleików skrobiowych prowadzi do otrzymania preparatu będącego substratem dla bakterii probiotycznych, jednak stymulacja ich wzrostu nie jest znacząca. Przytoczone wyniki badań, choć są obiecujące, to wskazują na konieczność kontynuacji eksperymentów zarówno metodami *in vitro*, jak i *in vivo*.

Tabela 3. Liczebność mikroflory w kale szczurzym  
Table 3. The number of microflora in rat faeces

Dieta	Masa próbek kału (g)	Średnia liczebność mikroflory szczura (jtk)	Średnia liczebność mikroflory szczura w 1 g kału		Średnia liczebność mikroflory w 1 g kału w badanej populacji (log jtk)
			jtk	log jtk	
S1	1,04	$4,6 \times 10^7$	$4,4 \times 10^7$	7,64	6,56 ±0,94
S2	1,01	$8,5 \times 10^5$	$8,4 \times 10^5$	5,92	
S3	1,05	$1,4 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$	6,11	
H1	1,00	$7,5 \times 10^6$	$7,5 \times 10^6$	6,88	6,65 ±0,23
H2	1,03	$4,5 \times 10^6$	$4,4 \times 10^6$	6,64	
H3	1,01	$2,7 \times 10^6$	$2,7 \times 10^6$	6,43	

S1, S2, S3 – dieta ze skrobią o 100-procentowej strawności (Solamyl), H1, H2, H3 – dieta z dodatkiem skrobi modyfikowanej fizycznie.

## Wnioski

1. Zastosowanie skrobi modyfikowanej fizycznie jako źródła węgla w pożywkach laboratoryjnych pozwala na długotrwałą hodowlę *Bifidobacterium* sp., wiąże się jednak z modyfikacją ich metabolizmu. Badane szczepy bakterii wykorzystywały skrobię modyfikowaną fizycznie znacznie wolniej niż glukozę, niemniej jednak była to dynamika zbliżona do tej, jaką odnotowano w przypadku znanych analogów skrobi odpornej na enzymy amylolityczne.

2. W trakcie hodowli bakterii rodzaju *Bifidobacterium* w pożywkach zawierających skrobię modyfikowaną fizycznie ilość syntetyzowanych przez nie kwasów tłuszczowych była mniejsza niż w pożywkach z glukozą, a dominujący pod względem ilościowym był kwas octowy, a nie kwas mlekowy.

3. Skrobia modyfikowana fizycznie w drodze wysokociśnieniowej homogenizacji kleiku zastosowana w żywieniu szczurów doświadczalnych wywołała niewielką stymulację wzrostu *Bifidobacterium* w treści ich jelita ślepego.

## Literatura

- BIELECKA M., BIEDRZYCKA E., MAJKOWSKA A., JUŚKIEWICZ J., WRÓBLEWSKA M., 2002. Effect of non-digestible oligosaccharides on gut microecosystem in rats. Food Res. Int. 35: 139-144.
- CHUNG Y.CH., HSU CH.K., KO CH.Y., CHAN Y.CH., 2007. Dietary intake of xylooligosaccharides improves the intestinal microbiota, fecal moisture, and pH value in the elderly. Nutr. Res. 27: 756-761.
- GIBSON G., 2004. Prebiotics. Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol. 18, 2: 287-298.
- GIBSON G.I., ROBERFROID M., 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Nutr. J. 125: 1401-1412.
- HE T., ROELOFSEN H., ALVARES-LIAMAS G., VRIES M. DE, VENEMA K., WELLING G.W., VONG J.R., 2007. Differential analysis of protein expression of *Bifidobacterium* grown on different carbohydrates. J. Microbiol. Methods 69: 364-370.
- JALOŚIŃSKA M., 2006. Mikrobiologia żywności. Format – AB, Warszawa.
- LE BLAY G., MICHEL C., BLOTTIERE H.M., CHERBUT C., 1999. Enhancement of butyrate production in the rat caecocolonic tract by long-term ingestion of resistant potato starch. Br. J. Nutr. 82: 419-426.
- LE THANH J., SIP A., BURCHARDT A., MENCLEWICZ J., LEWANDOWICZ G., 2008. Skrobia modyfikowana fizycznie jako potencjalny prebiotyk. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. 530: 405-418.
- LIBUDZISZ Z., 1999. Probiotyki w żywieniu człowieka. Przem. Spoż. 1: 15 i 20.
- LIBUDZISZ Z., 2006. Żywność probiotyczna. W: Mikroorganizmy w żywności i żywieniu. Red. J. Gawęcki, Z. Libudzisz. Wyd. AR, Poznań.
- MOLSKA I., 1988. Zarys mikrobiologii mleczarskiej. PWRiL, Warszawa.
- ORBAN J.I., PETTERSON J.A., 2000. Modification of the phosphoketolase assay for rapid identification of *Bifidobacteria*. J. Microb. Methods 40: 221-224.
- QUERIOZ-MONICI DA KEILA S., COSTA GIOVANA E.A., NEUSELY DA SILVA, SOELY M.P.M. REIS, ADMAR C. DE OLIVEIRA., 2005. Bifidogenic effect of dietary fiber and resistant starch from leguminous on the intestinal microbiota of rats. Nutrition 21: 602-608.
- RADA V., PETER J., 2000. A new selective medium for the isolation of glucose non-fermenting *Bifidobacteria* from hen *caeca*. J. Microbiol. Methods 43: 127-132.
- SCHLEGEL G., 2000. Mikrobiologia ogólna. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.

Le Thanh-Blicharz J., Krasowska M., Anioła J., Szyngwelski R., Tubacka M., Lewandowicz G., 2010. Skrobia modyfikowana fizycznie jako źródło węgla dla *Bifidobacterium* sp. w badaniach *in vitro* oraz *in vivo*. *Nauka Przyr. Technol.* 4, 2, #25.

- SORAL-ŚMIETANA M., WRONKOWSKA M., 2004. Resistant starch – nutritional and biological activity. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 54, 13, S11: 51-64.
- VULEVIC J., RASTALL R.A., GIBSON G.R., 2004. Developing a quantitative approach for determining the *in vitro* prebiotic potential of dietary oligosaccharides. *FEMS Microbiol. Lett.* 236: 153-159.
- WRONKOWSKA M., SORAL-ŚMIETANA M., KRUPA U., BIEDRZYCKA E., 2006. *In vitro* fermentation of new modified starch preparations – changes of microstructure and bacterial end-products. *Enzyme Microb. Technol.* 40: 9-99.
- ZIAJKA S., DZWOLAK W., 2004. Bifidobakterie – charakterystyka morfologiczna i fizjologiczna. W: Bakterie fermentacji mlekowej. Klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie. Red. Z. Libudysz, P. Walczak, J. Bardowski. Wyd. PŁ, Łódź: 45-74.

#### PHYSICALLY MODIFIED STARCH AS A CARBON SOURCE FOR *BIFIDOBACTERIUM* SP. IN *IN VITRO* AND *IN VIVO* STUDIES

**Summary.** The aim of the work was to evaluate the prebiotic properties of physically modified starch obtained by high pressure homogenization of the gel. In *in vitro* studies selected strains belonging to the genus *Bifidobacterium* were cultured in standard MRS medium supplemented with the following alternate carbon sources: glucose, maltodextrin, non-modified potato starch and modified starch. MRS medium without carbohydrate was used as a negative control. During the culture-experiments the number of microorganisms, rate at which they assimilated sugars, as well as amount of short chain fatty acids they produced were determined. In *in vivo* studies the number of *Bifidobacterium* spp. in the cecum of rats fed with diet containing modified starch or preliminarily gelatinized native starch was evaluated. It was found that the physically modified starch possessed prebiotic properties similar to the known analogues of starch resistant to amylolytic enzymes.

**Key words:** starch physically modification, prebiotic, *Bifidobacterium* sp.

*Adres do korespondencji – Corresponding address:*

Joanna Le Thanh-Blicharz, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego w Warszawie, Oddział Koncentratów Spożywczych i Produktów Skrobiowych w Poznaniu, ul. Starołęcka 40, 61-361 Poznań, Poland, e-mail: lethanh@man.poznan.pl

*Zaakceptowano do druku – Accepted for print:*  
9.02.2010

*Do cytowania – For citation:*

Le Thanh-Blicharz J., Krasowska M., Anioła J., Szyngwelski R., Tubacka M., Lewandowicz G., 2010. Skrobia modyfikowana fizycznie jako źródło węgla dla *Bifidobacterium* sp. w badaniach *in vitro* oraz *in vivo*. *Nauka Przyr. Technol.* 4, 2, #25.