

Tiedekunta/Osasto – Fakultet/Sektion Matemaattis-luonnontieteellinen		Laitos – Institution Biotieteiden laitos, Yleisen mikrobiologian osasto	
Tekijä – Författare Siljander, Tuula			
Työn nimi – Arbetets titel Kuidun anaerobinen <i>in vitro</i> -fermentaatiomenetelmä, vaikutukset maitohappobakteeriflooraan.			
Oppiaine – Läroämne Yleinen mikrobiologia			
Työn laji – Arbetets art pro gradu		Aika – Datum syyskuu 1999	Sivumäärä – Sidoantal 74 s. + liitteet
Tiivistelmä – Referat  <p>Tutkielman kirjallisuusosassa perehdyttiin ihmisen suolistofysiologiaan ja yleisimpiin suolistobakteereihin, etenkin maitohappobakteereihin. Työssä käsiteltiin suolistobakteerian ravinnokseen käyttämiä substraatteja, bakteerian fermentaatiometabolian tuotteita ja näiden tuotteiden vaikutuksia ihmisen terveydentilaan. Lisäksi perehdyttiin yleisesti suolistoa simuloivien mallien toimintaan. Työssä tarkasteltiin myös terveyttä edistäviä probioottibakteereita ja probioottien kasvua edistäviä ravintoaineita, prebiootteja.</p> <p>Työn kokeellisessa osassa tutkittiin VTT Bio- ja elintarviketekniikan tutkimusyksikössä kehitetyn yksinkertaisen <i>in vitro</i> -suolistofermentaatiomenetelmän toimintaa. Työn tavoitteena oli menetelmän mikrobiologinen arviointi ja erilaisten fermentaatio-olosuhteiden vaikutusten selvittäminen. Fermentoivana mikrobifloorana käytettiin ihmisen ulosteesta valmistettua pakastettua siirrostetta ja fermentaation substraattina ruisleivän kuitua. Kuidun anaerobisen fermentaation vaikutusta yleisten suolistobakteerian määrään tutkittiin. Anaerobisten ja aerobisten bakteerian, bifidobakteerian, bakteroidisten, klostridien, maitohappobakteerian ja koliformisten bakteerian määrä määritettiin viljelymenetelmällä. Fermentaation lopputuotteiden laatu ja määrä määritettiin, kaasut (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> ja H<sub>2</sub>S) kaasukromatografisesti ja lyhytketjuiset rasvahapot (etikkahappo, propionihappo ja voi-happo) sekä maitohappo korkeapainenestekromatografia -menetelmällä. Siirrosteen pakastuksenkestoa tutkittiin menetelmän toistettavuuden varmistamiseksi. Fermentaation aikana tapahtuvia maitohappobakteeripopulaatioiden muutoksia tutkittiin tunnistamalla maitohappobakteerilajeja ennen fermentaatiota ja neljän tunnin fermentaation jälkeen. Maitohappobakteerilajien tunnistamisessa käytettiin API 50 CHL -hiilihydraattien fermentaatiotestiä sekä ribosomaalisten geenialueiden variaatioerojen vertailuun perustuvaa automaattista ribotyypitysmenetelmää. Lisäksi tutkittiin potentiaalisen probioottisen maitohappobakteerikannan <i>Lactobacillus rhamnosus</i> E800 selviytymistä fermentaatiossa muun bakteeriflooran joukossa sekä kannan aiheuttamia mahdollisia muutoksia fermentaation lopputuotteissa.</p> <p>Fermentaation toistettavuus oli hyvä kolmen rinnakkaisen kokeen perusteella. Siirrosteen pakastaminen vähensi siirrosteen bakteerimääriä enintään kymmenesosaan alkuperäisestä määrästä. Pakastamisen kestolla ei ollut vaikutusta bakteerimääriin. Fermentaation aikana bakteerimäärät kasvoivat ja lyhytketjuisia rasvahappoja ja kaasuja muodostui. Fermentaatio-olosuhteet vastasivat pH:n ja anaerobisuuden osalta paksusuolen fysiologisia olosuhteita. Maitohappobakteerilajeissa ei tapahtunut muutoksia neljän tunnin fermentaation aikana. Tunnistetut maitohappobakteerilajit olivat ihmisen ulosteessa yleisesti esiintyviä, mm. <i>L. rhamnosus</i>, <i>L. acidophilus</i> ja <i>L. fermentum</i>. Probioottikannan <i>L. rhamnosus</i> E800 lisääminen fermentaatioon maitohappobakteeripopulaation valtalajiksi muutti fermentaation lopputuotteita: maitohapon määrä kasvoi 30 % korkeammaksi ja rikkivedyn määrä väheni kymmenesosaan normaalista tasosta. Probioottikannan terveysvaikutusten kannalta em. muutokset fermentaation lopputuotteissa olisivat toivottuja ihmisen suolistossa. Työn johtopäätöksenä fermentaatiomenetelmä soveltuu hyvin erilaisten substraattien, kuten kuitujen ja oligosakkaridien fermentoitumisen tutkimiseen. Suolistofermentaation tarkempaa mikrobiologista simulointia varten tulisi kuitenkin käyttää jatkuvatoimista fermentaatiomenetelmää.</p>			
Avainsanat – Nyckelord maitohappobakteerit, probiootti, suolistomikrobit, kuitu, fermentaatio, lyhytketjuiset rasvahapot, rikkivety			
Säilytyspaikka – Förvaringställe Yleisen mikrobiologian osaston kirjasto			
Muita tietoja Ohjaaja prof. Atte von Wright			