

# **Tejsavasán erjesztett funkcionális ital kifejlesztésének mikrobiológiai és élelmiszerbiztonsági vonatkozásai**

**Maráz Anna<sup>1</sup>,  
Pázmándi Melinda<sup>1,2</sup>  
Kovács Zoltán<sup>2</sup>**

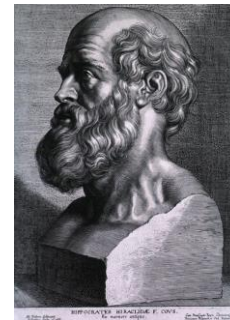
<sup>1</sup>Élelmiszer-mikrobiológia, -higiéncia és -biztonság Tanszék

<sup>2</sup>Élelmiszeripari Műveletek és Folyamattervezés Tanszék  
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Budapest

**Zamárdi/on-line, 2021. 11. 9-10.**

# Funkcionális élelmiszerek

Hippokratész (Kr. e. 460-377): “Gyógyszered legyen az ételed, s ételed legyen a gyógyszered!”



Hippokratész (Rubens, 1638)

- **A funkcionális élelmiszer koncepciója** Japánból indult el az 1980-as években és innét terjedt el a gazdaságilag fejlett országokban, lényeges profitot eredményezve.
- **1984: Foods for Specific Health Uses (FOSHU)** állami projekt “Food products fortified with special constituents that possess advantageous physiological effects.”

## FOSHU jelölés feltételei:

- 1/ **Hatékonyság** bizonyítása klinikai vizsgálatokkal
- 2/ **Biztonságosság** bizonyítása klinikai és nem-klinikai vizsgálatokkal
- 3/ Az **aktív, ill. hatékony komponensek** azonosítása



# Funkcionális élelmiszerek (folyt.)

## Codex Alimentarius

➤ **A Codex Alimentarius-ban nincs „Funkcionális élelmiszer” kategória**, azonban szabályozza a Táplálkozással és az Egészséggel kapcsolatos állításokat (*Guidelines on use of Nutrition and Health claims*), amelyeknek a nemzeti táplálkozási szabályozással, illetve a nemzeti egészségpolitával összhangban kell lenniük.

➤ **Az EU törvényi szabályozása szerint** sincs „Funkcionális élelmiszer” kategória, azonban a Codex Alimentarius szerinti állítások érvényesíthetők.

### **European Commission Concerted Action on Functional Food Science**

„munka definíciója”: A funkcionális élelmiszer a megfelelő táplálkozás-élettani hatásokon felül ***más pozitív hatást is*** gyakorol a szervezetre: ***az egészséget növeli, a közérzetet javítja és/vagy csökkenti bizonyos betegségek kockázatát.***

**Alapvető feltétel: Az aktív élelmiszer komponens(ek) azonosítása**

# Prebiotikumok

A funkcionális élelmiszerek általánosan elfogadott bioaktív komponensei a *prebiotikumok*.

A **prebiotikumok** olyan *nem emészthető* élelmiszer-összetevők, amelyek *jótékonyan hatnak* a gazdaszervezetre azáltal, hogy *szelektíven serkentik* a vastagbélben élő hasznos (*probiotikus*) baktériumok szaporodását és/vagy aktivitását, ezáltal javítják a gazdaszervezet egészségét (Gibson & Roberfroid, 1995).

Leggyakrabban alkalmazott prebiotikumok:

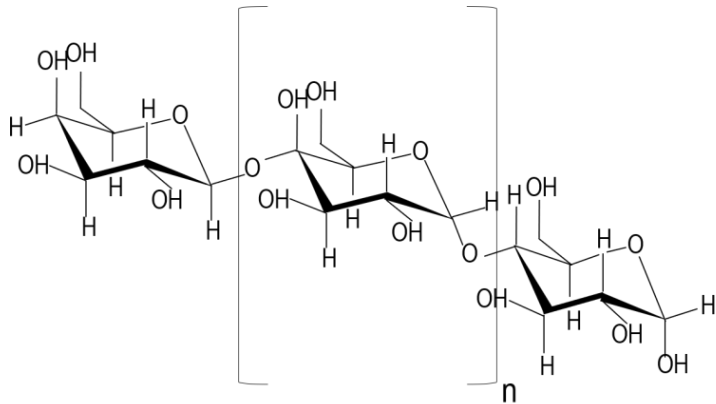
Inulin, fruktooligoszacharidok (FOS), galaktooligoszacharidok (GOS), xilooligoszacharidok (XOS)



**Probiotikum + prebiotikum = szinbiotikum**



# Galakto-oligoszacharidok (GOS)



**Galakto-Oligo Szacharid**

- **Bizonyítottan prebiotikus hatású vegyületek**

- **Szerkezet:** Gal<sub>n</sub>-Glu n=1-9

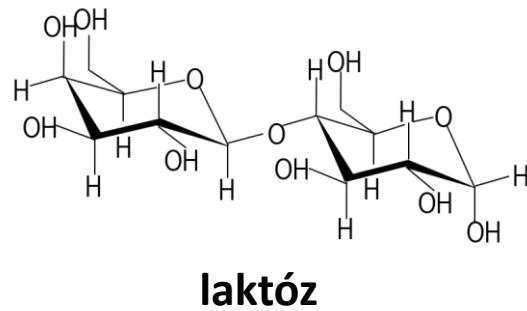
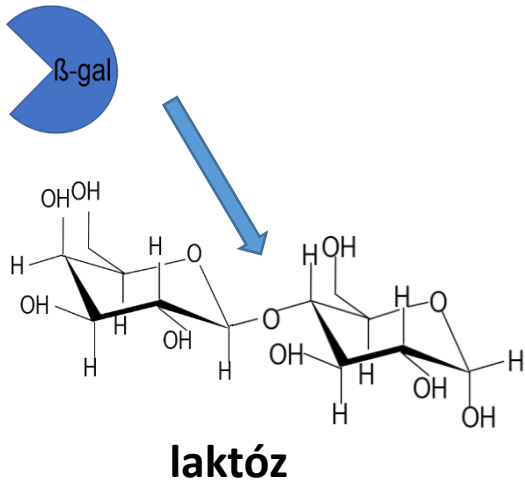
- **Szubsztrát:** laktóz - savó-eredetű

- **Szintézis** β-galaktozidáz enzimmal

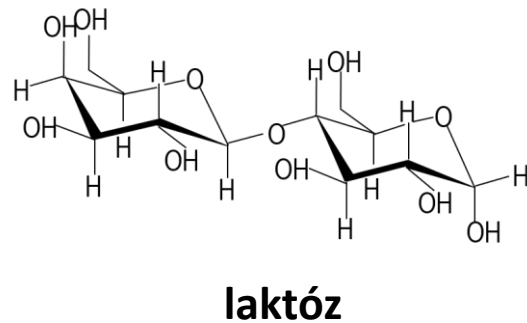
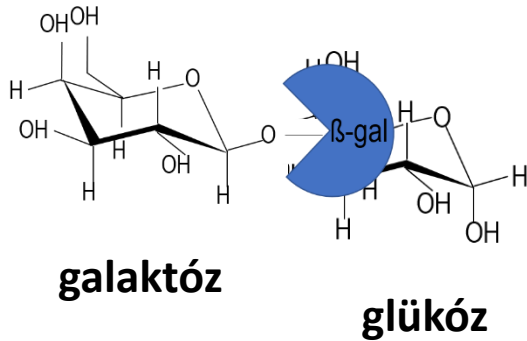
→ Alacsony laktóz cc.: hidrolízis

→ Magas laktóz cc.: GOS szintézis

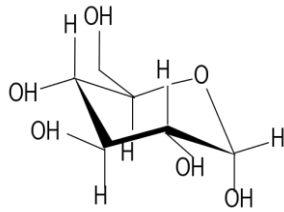
# Galakto-oligoszacharidok enzimes szintézise



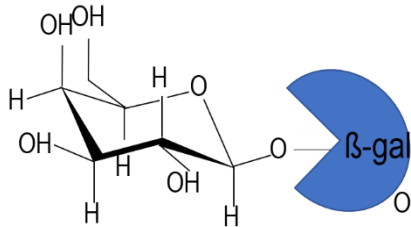
# Galakto-oligoszacharidok enzimes szintézise



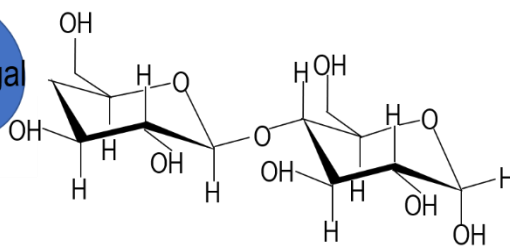
# Galakto-oligoszacharidok enzimes szintézise



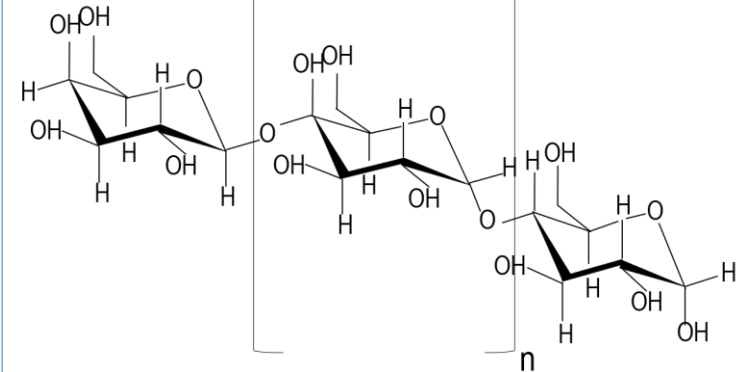
**glükóz**



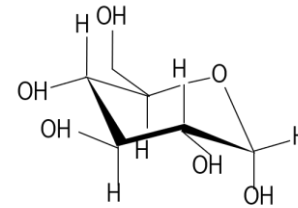
**galaktóz**



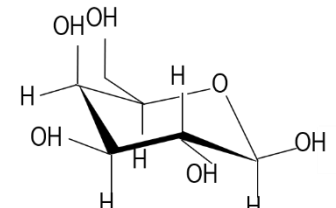
**laktóz**



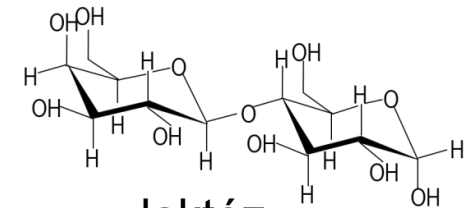
**Galakto-oligoszacharid**



**glükóz**



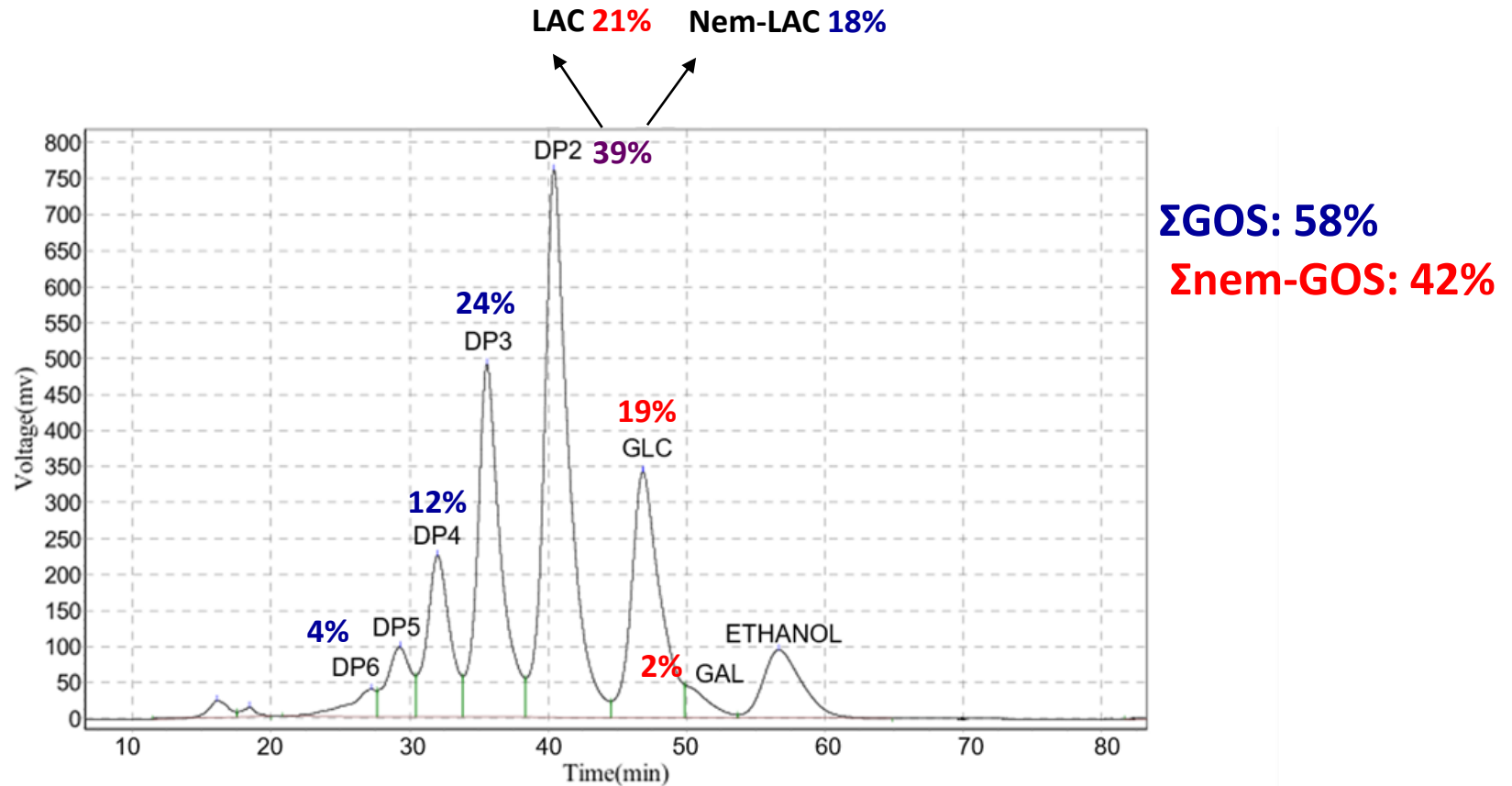
**galaktóz**



**laktóz**



# Vivinal GOS Syrup (FrieslandCampina) frakciói



10%-os GOS+0.5% YE tápközeg HPLC kromatogramja (+ 5w/v% etanol)

DP: Degree of Polymerisation

# Célkitűzés

**A nyers GOS szirup monoszacharid és laktóz tartalmának szelektív fermentációja tejsavbaktériumok segítségével, ezáltal tiszta GOS-t tartalmazó tejsavasán erjesztett funkcionális ital alap előállítása**

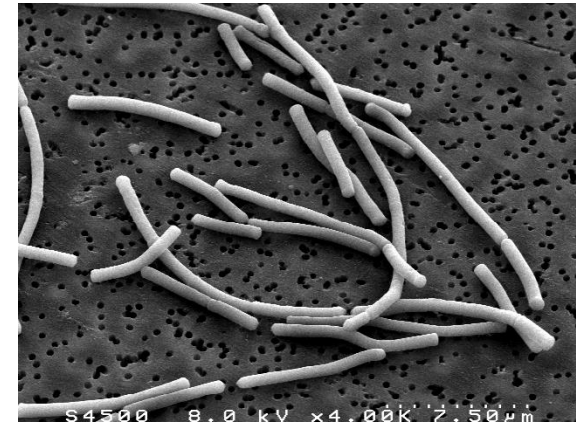
## Lépések

- 1. Törzsszelekció:** GOS-t nem hasznosító LAB törzsek kiválasztása
- 2. Fermentáció (tápközeg) optimalása**
- 3. Termelt metabolitok meghatározása :** Szerves savak, L(+) és D(-) tejsav mérése
- 4. GOS kihozatal és tisztaság meghatározása**
- 5. Termék(ek) értékelése táplálkozási és élelmiszer-biztonsági szempontból**

# Törzs szkrínelés

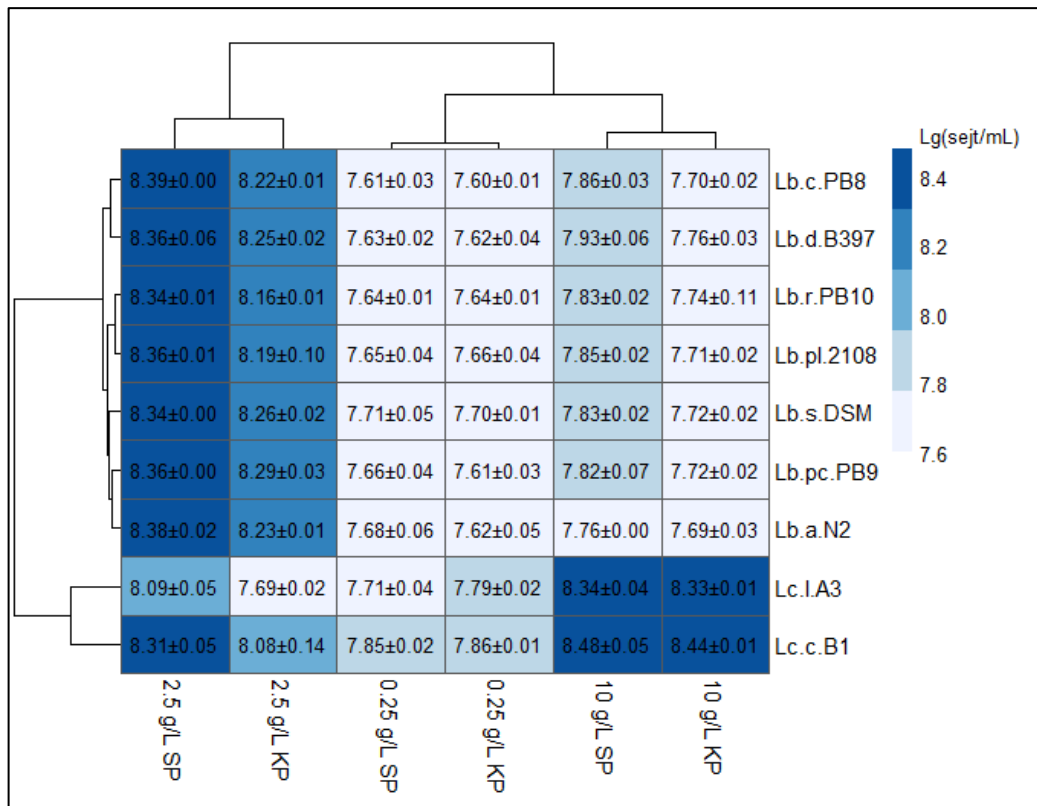
## LAB törzsek:

- *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* B397
- *Lactobacillus sakei* DSM 20017
- *Lactobacillus acidophilus* N2
- *Lactobacillus casei* PB 8
- *Lactobacillus helveticus* PB 9
- *Lactobacillus plantarum* 2108
- *Lactobacillus rhamnosus* PB 10
  
- *Lactococcus lactis* A1
- *Lactococcus cremoris* B1



# Törzsselekció és nitrogén forrás kiválasztása

## Szaporodás

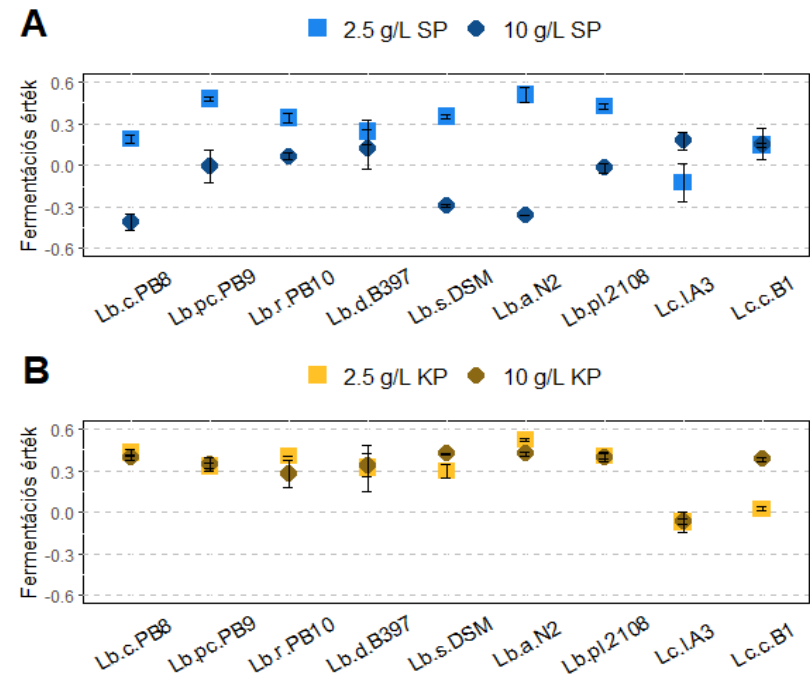


**Lactobacillus törzsek: 2,5 g/L Szója vagy kazein pepton**

**Lactococcus törzsek: 10 g/L Szója vagy kazein pepton**

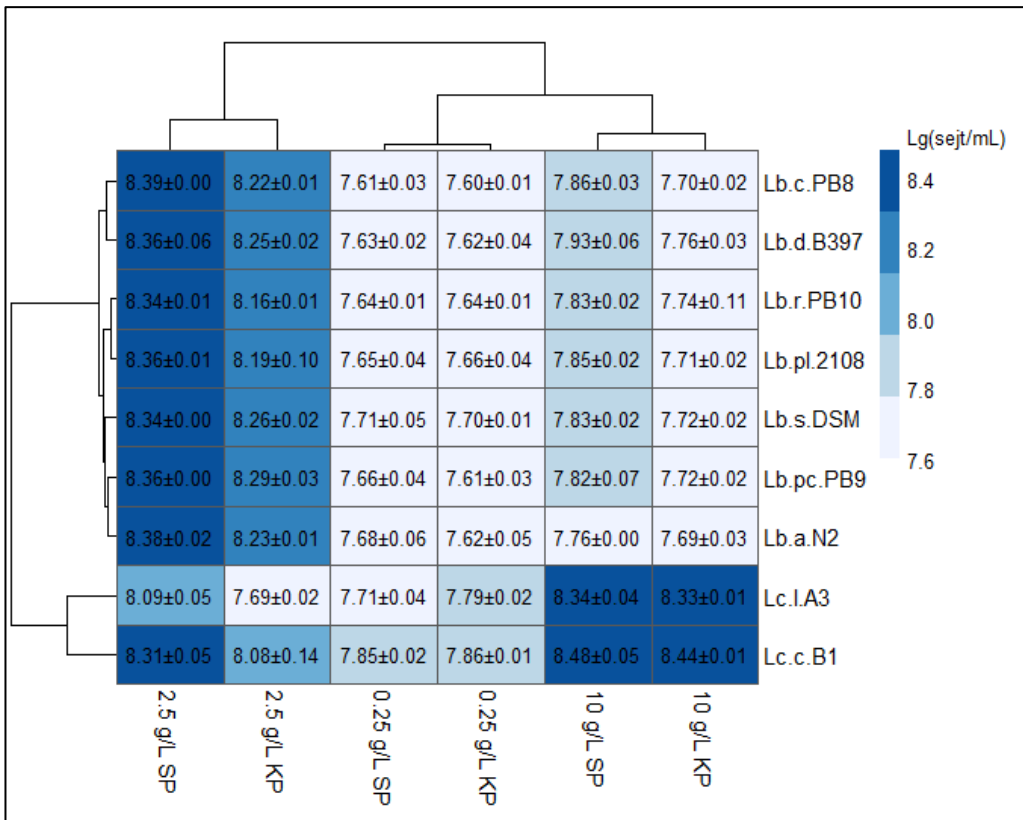
## Szelekció fermentációs érték alapján

SP: szója pepton; KP: kazein pepton



# Törzsselekcció és nitrogén forrás kiválasztása

## Szaporodás

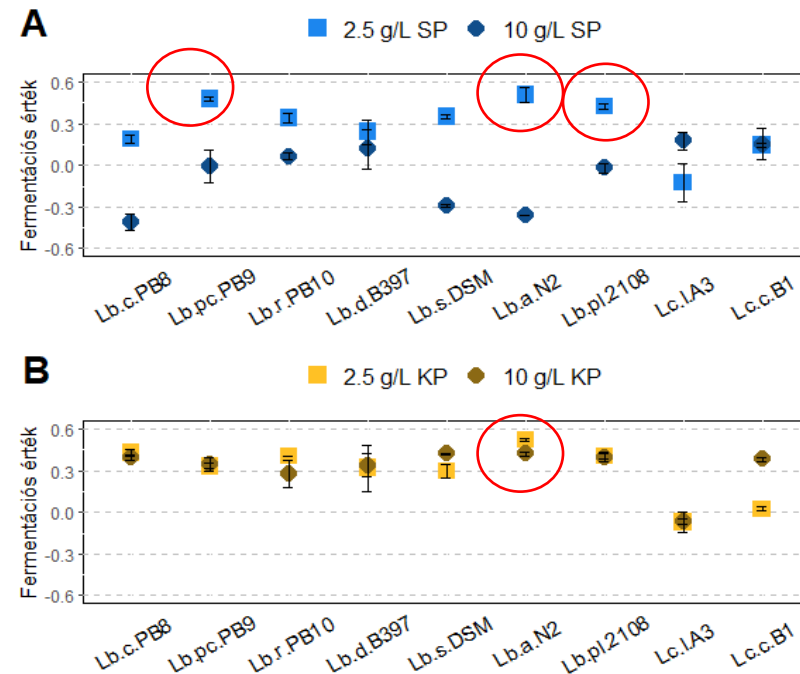


**Lactobacillus törzsek: 2,5 g/L Szója vagy kazein pepton**

**Lactococcus törzsek: 10 g/L Szója vagy kazein pepton**

## Szelekció fermentációs érték alapján

SP: szója pepton; KP: kazein pepton

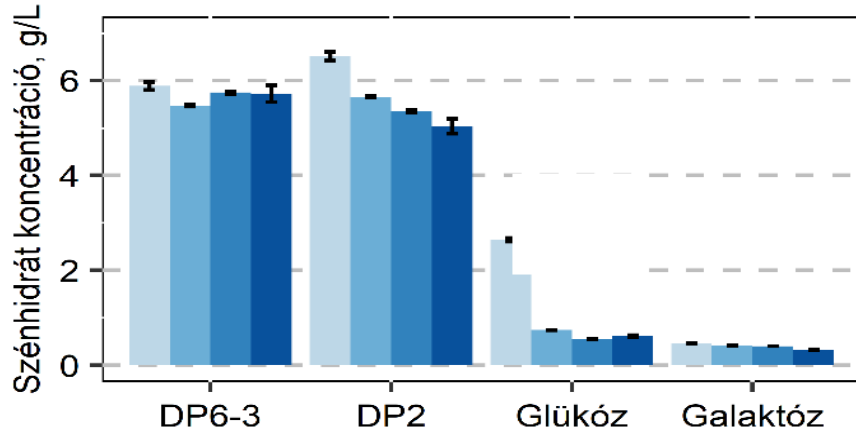


**Lactobacillus paracasei PB9**  
**Lactobacillus acidophilus N2**  
**Lactobacillus plantarum 2108**

# Mono- és diszacharidok szelektív metabolizmusa

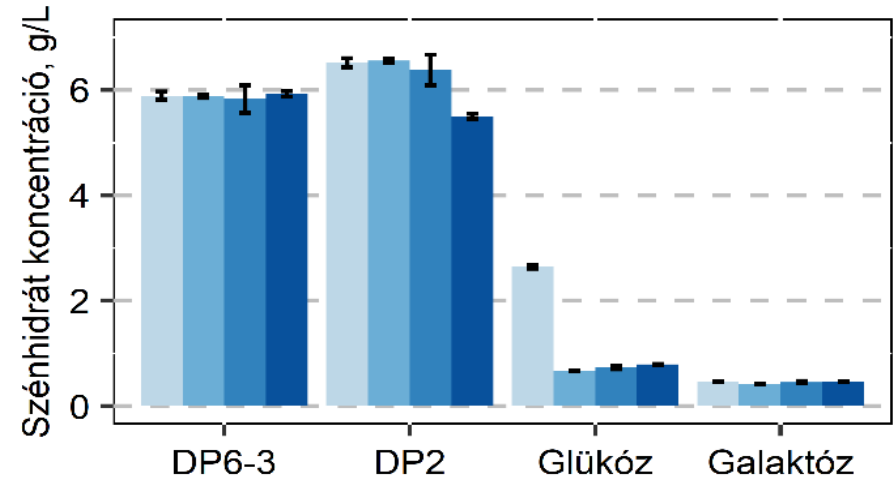
L. acidophilus N2

GOS+2,5 g/L SP



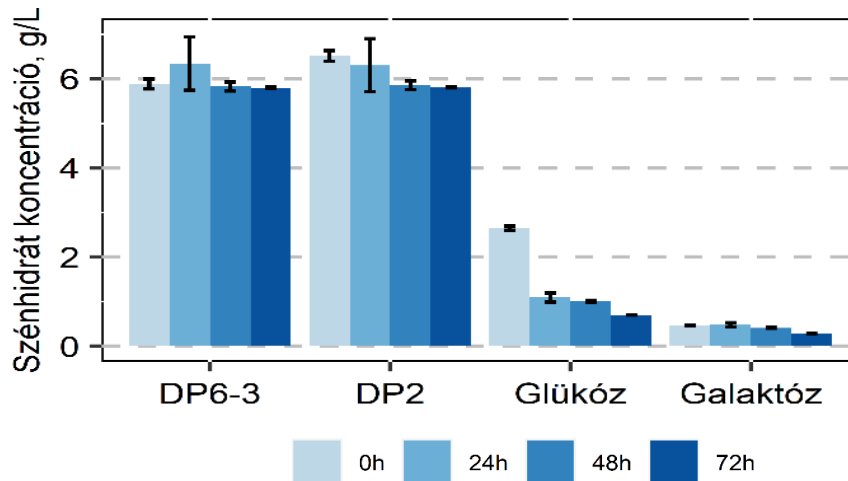
L. paracasei PB9

GOS+2,5 g/L SP



L. plantarum 2108

GOS+2,5 g/L SP



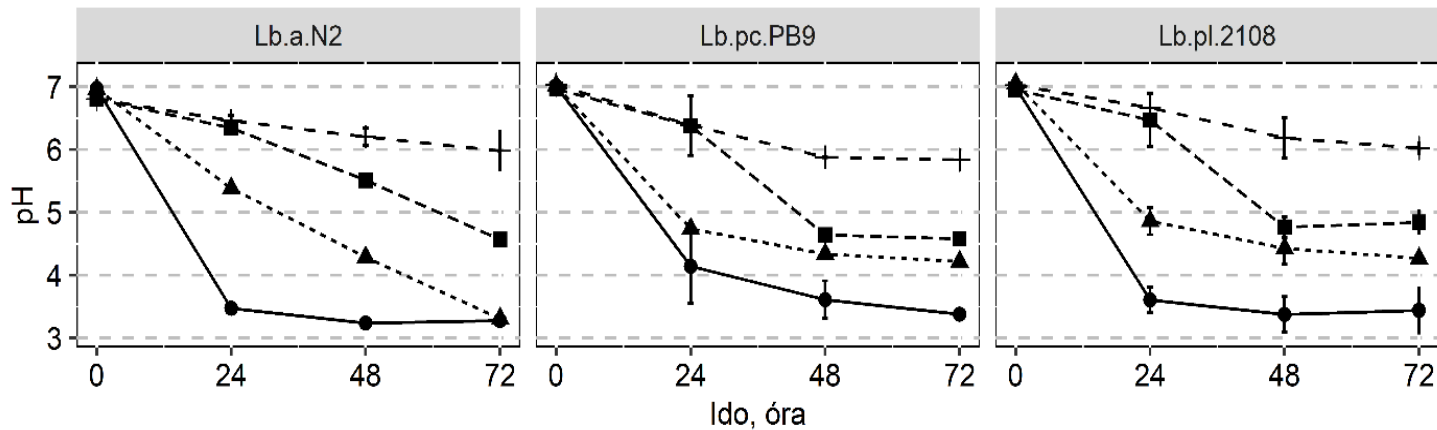
- **Nem valósul meg** a mono- és diszacharidok eltávolítása
- A pH gyors csökkenése (24 óra alatt ~3,4-es pH érték) miatt a **metabolikus aktivitás lecsökken**
- **Pufferelés** hatásának vizsgálata szükséges (0,05-0,15 M foszfát puffer)

# Pufferelés hatása a savasodásra és a szaporodásra

## Pufferelés 0,05; 0,10 és 0,15 M foszfát pufferrel

### pH változás

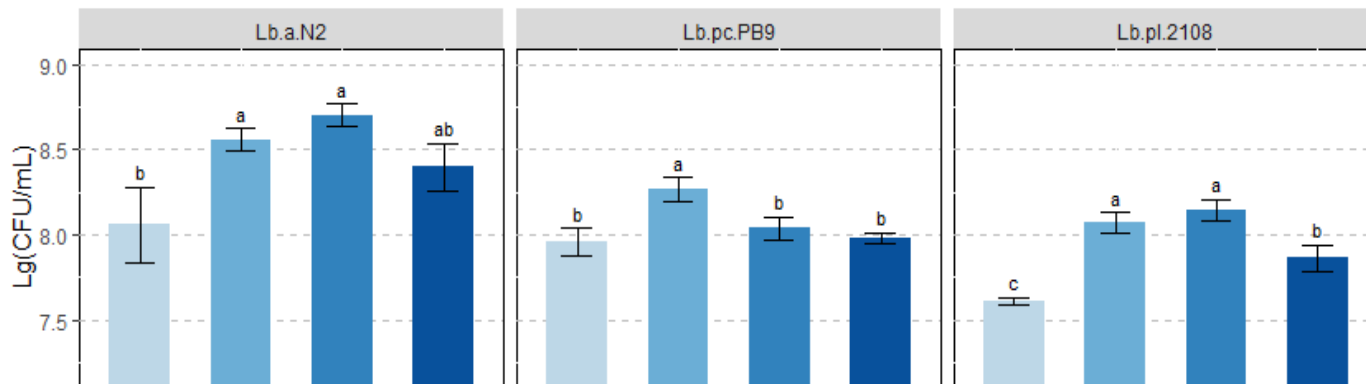
**A** ● GOS+SP, puffer nélkül ▲ GOS+SP, 0.05M puffer ■ GOS+SP, 0.10M puffer + GOS+SP, 0.15M puffer



**Pufferelés lassítja a savasodást. 0,05 és 0,10 M optimális**

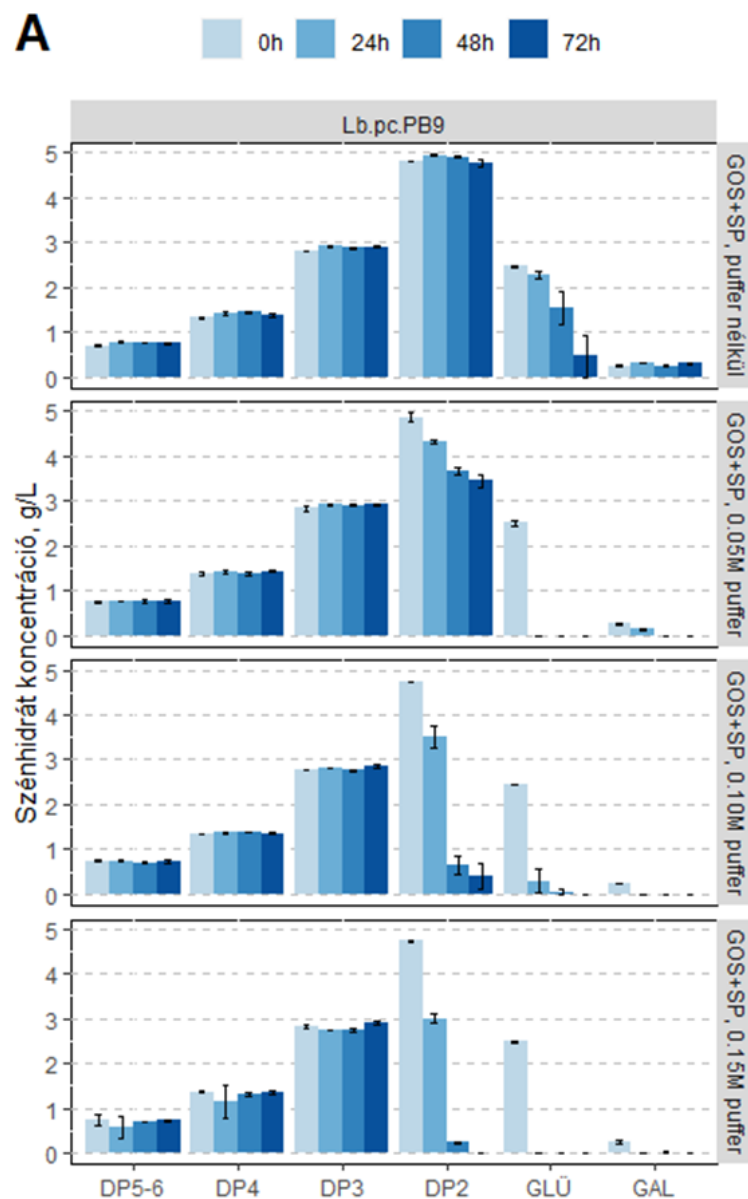
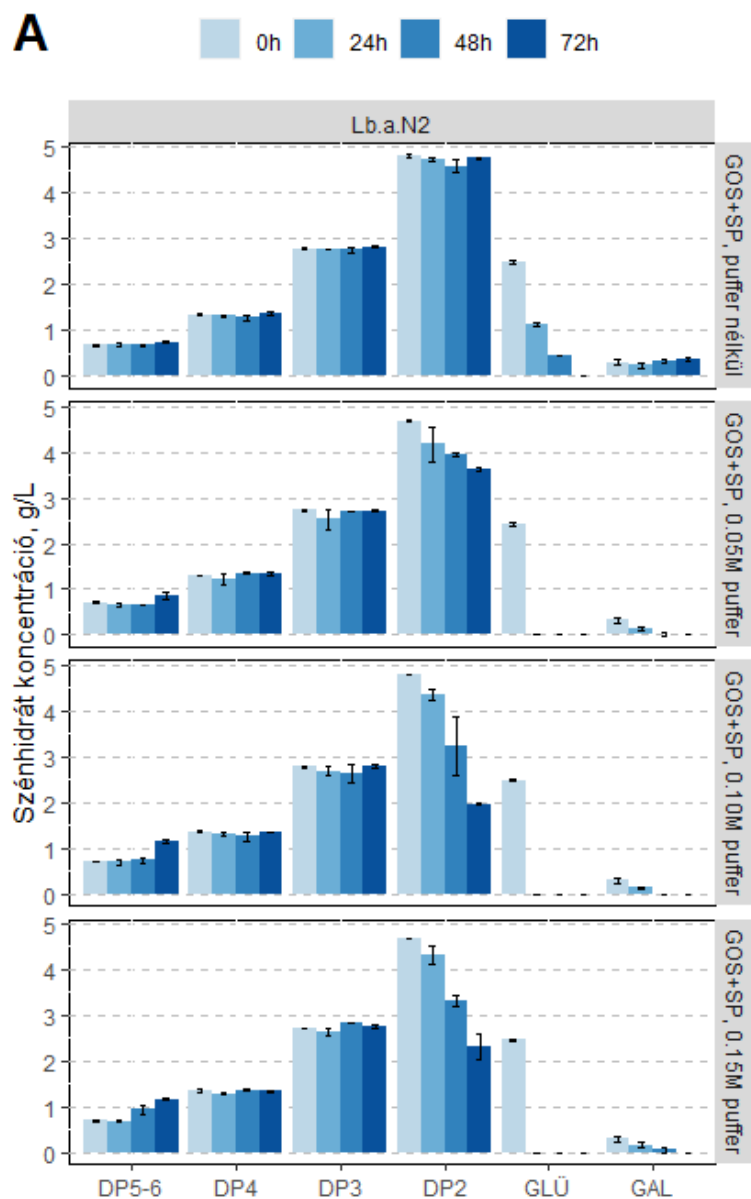
### Szaporodás

**A** ■ GOS+SP, puffer nélkül ■ GOS+SP, 0.05M puffer ■ GOS+SP, 0.10M puffer ■ GOS+SP, 0.15M puffer



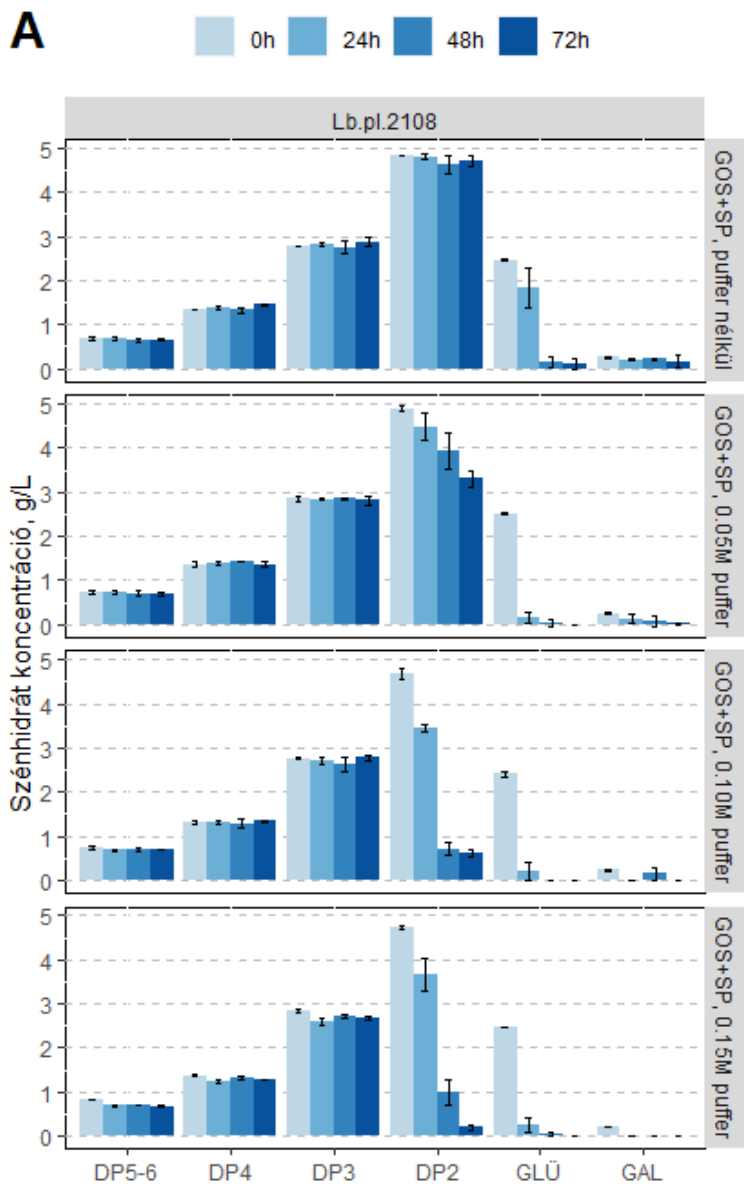
**Pufferelés serkenti a szaporodást**

# *L. acidophilus* N2 és *L. paracasei* PB9 szénhidrát hasznosítási profilja





# *L. plantarum* 2108 szénhidrát hasznosítási profilja



1) Pufferelés hatására a szénhidrát-felhasználás mértéke megnőtt

2) A *L. acidophilus* N2, *L. paracasei* PB9 és *L. plantarum* 2108 törzsek  $\beta$ -galaktozidáz enzimei specifikusak a nyers GOS DP2 diszacharidjainak lebontására

3) A *L. paracasei* PB9 és *L. plantarum* 2108 törzsek alkalmasak hígított GOS szirupból a mono- és diszacharidok szelektív fermentációjára (15 g/L teljes szénhidrát cc., 2,5 g/L szója vagy kazein pepton; 0,1-0,15 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ - $\text{K}_2\text{HPO}_4$  puffer

# Mono- és diszacharidok szelektív fermentációja. GOS kihozatal (Y) és tisztaság ( $P_f$ vs $P_i$ )

Közeg: 10% GOS syrup + 2.5 g/L kazein hidrolizátum

Strains	Buffer, mol/L	Yield (Y)	$P_i$	$P_f$	
<i>L. acidophilus</i> N2	-	96.17±4.23	38.53±0.05	48.49±0.26 <sup>d</sup>	<i>L. paracasei</i> PB9 és <i>L. plantarum</i> 2108 -> Teljes DP2 fázist felhasználtak
	0.05	100±1.32	38.53±0.05	64.31±0.87 <sup>a</sup>	
	<b>0.10</b>	<b>100±2.41</b>	<b>38.16±0.11</b>	<b>70.94±0.99<sup>b</sup></b>	
	0.15	99.34±3.92	38.01±0.07	57.46±0.00 <sup>d<sup>c</sup></sup>	
<i>L. paracasei</i> PB9	-	100±0.48	38.72±0.05	45.19±1.09 <sup>d</sup>	-> Nagy tisztaságú GOS keletkezett
	0.05	95.01±0.87	38.62±0.23	65.16±0.23 <sup>a</sup>	
	0.10	100±1.40	38.47±0.09	93.34±2.18 <sup>b</sup>	
	<b>0.15</b>	<b>98.05±0.49</b>	<b>39.01±0.20</b>	<b>97.34±0.22<sup>c</sup></b>	
<i>L. plantarum</i> 2018	-	100±3.26	38.69±0.03	50.13±1.26 <sup>c</sup>	
	0.05	97.9±4.93	38.62±0.23	67.43±0.77 <sup>a</sup>	
	<b>0.10</b>	<b>100±1.65</b>	<b>38.47±0.09</b>	<b>94.63±0.66<sup>b</sup></b>	
	0.15	96.99±1.42	39.01±0.20	94.14±1.30 <sup>b</sup>	

# Mono- és diszacharidok szelektív fermentációja

## Szerves sav termelés

Törzs	Puffer M	Szerves savak (g/L)				
		L-Tejsav	D-Tejsav	Citromsav	Borkősav	Propionsav
<i>L. acidophilus</i> N2	-	2.24±0.03	0.12±0.01	nd	nd	0.14±0.00
	0.05	4.42±0.12	0.13±0.04	0.37±0.13	0.19±0.01	0.17±0.02
	0.10	4.71±0.16	0.27±0.08	1.88±0.18	0.40±0.07	0.03±0.05
	0.15	3.44±0.17	0.18±0.17	2.46±0.05	0.5±0.01	0.14±0.00
<i>L. paracasei</i> PB9	-	1.77±0.23	0.00±0.00	nd	nd	0.11±0.00
	0.05	4.51±0.12	0.15±0.04	nd	0.21±0.05	0.13±0.00
	0.10	6.17±0.37	0.17±0.07	1.56±0.88	0.43±0.05	0.14±0.02
	0.15	6.47±0.16	0.31±0.17	2.08±0.01	0.52±0.03	0.22±0.00
<i>L. plantarum</i> 2108	-	2.57±0.09	0.03±0.05	nd	nd	0.18±0.02
	0.05	4.49±0.23	0.29±0.19	nd	0.20±0.01	0.16±0.01
	0.10	6.46±0.18	0.25±0.02	1.63±0.42	0.27±0.14	0.21±0.02
	0.15	6.18±0.36	0.50±0.28	2.31±0.05	0.47±0.01	0.17±0.01

→ Savtermelés mennyisége és spektruma pufferelés hatására megnő

→ A fő termelt sav az L-tejsav

→ D-tejsav csak kis mennyiségben detektálható

→ Citromsav nagyobb mennyiségben keletkezik pufferelés esetén

**Az *L. paracasei* PB9 és *L. plantarum* 2108 által végzett szelektív fermentáció eredménye felhasználható funkcionális (tejsavasan fermentált prebiotikus) italok alapjaként.**

# Termék(ek) értékelése táplálkozási és élelmiszer-biztonsági szempontból

## Tejsav:

- 0,1 M puffer esetében 5-6,7 g/L tejsav keletkezett – tejsavasán erjesztett gyümölcs, zöldség és savó alapú italok esetében hasonló cc.
- *L. paracasei* és *L. plantarum* esetében 0,1 M-os pufferelés pH szempontjából biztonságos (<5) terméket eredményez.
- A D-laktát mennyisége max. 10%-a volt az L-laktáténak. Ez nem okozhat a vérszérumban növekedést, még D-laktát acidózisra rizikós embereknél sem.

## GOS:

- Terápiás hatás eléréséhez 2,5-10 g napi fogyasztás javasolt. A fermentált ital alapból kb. 500 ml fedezi a napi szükségletet.

## Foszfát-puffer foszfor tartalma:

- Max. tolerálható napi bevétel (MTDI) 70 mg P; lefogadható napi bevétel (ADI) 40 mg P/testtömeg kg. Ital alapban 32% MTDI, ill. 55% ADI.

**Hippokratész:**

*Csupán két dolog létezik: a tudomány és a vélemény; az első tudást, a második tudatlanságot szül.*



**Köszönöm a figyelmet!**