

**DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**  
**MAGYAR AGRÁR- ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM**  
**KAPOSVÁRI CAMPUS**

Élettani és Takarmányozástani Intézet

A doktori iskola vezetője:

Prof. Dr. SZABÓ ANDRÁS

MTA doktora

Témavezető:

VARGÁNÉ Dr. VISI ÉVA

PhD

**PRO- ÉS PREBIOTIKUMOT TARTALMAZÓ SAVÓ  
ALAPÚ, FERMENTÁLT TEJTERMÉKEK ÉLETTANI  
HATÁSÁNAK ÉS A KÉSZTERMÉK FOGYASZTÓI  
MEGFELELŐSÉGÉNEK VIZSGÁLATA**

Készítette:

**PÁPAI GRÉTA**

KAPOSVÁR

2021

**DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**  
**MAGYAR AGRÁR- ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM**  
**KAPOSVÁRI CAMPUS**

Élettani és Takarmányozástani Intézet

A doktori iskola vezetője:

**Prof. Dr. SZABÓ ANDRÁS**

MTA doktora

Témavezető:

**VARGÁNÉ Dr. VISI ÉVA**

PhD

**PRO- ÉS PREBIOTIKUMOT TARTALMAZÓ SAVÓ  
ALAPÚ, FERMENTÁLT TEJTERMÉKEK ÉLETTANI  
HATÁSÁNAK ÉS A KÉSZTERMÉK FOGYASZTÓI  
MEGFELELŐSÉGÉNEK VIZSGÁLATA**

Készítette:

**PÁPAI GRÉTA**

KAPOSVÁR

2021

## 1. A kutatás előzményei, célkitűzések

A fermentáció az egyik legrégebbi tartósítási eljárás; már az Ószövetségben is említést tesznek róla, mivel Ábrahám hosszú életét a rendszeres joghurt fogyasztással hozták összefüggésbe, anélkül, hogy ismerték volna a jelenség tudományos hátterét. Napjainkra számos kutatási eredmény bizonyítja a rendszeresen, megfelelő mennyiségben fogyasztott probiotikum egészségre gyakorolt kedvező hatását. Manapság a probiotikus élelmiszerek választéka széleskörű (pl. probiotikus fermentált tejtermékek, italok, gabonapelyhek, hústermékek) valamint táplálékkiegészítő kapszulák formájában is elterjedt a használatuk. Amikor a bélrendszer mikrobiomjának az összetétele kedvezőtlené válik, diszbiózis alakulhat ki, amely előnytelen a gazdaszervezet egészségére nézve. Az egyik legmegfelelőbb módja az „elfeledett szerv” bakteriális újbóli kolonizálására a jótékony bifidobaktériumok és laktobacilluszok alkalmazása. Számos baktériumról bizonyították, hogy probiotikus hatásokkal rendelkezik, közülük a *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* nemzetségből származó törzseket alkalmazzák a leggyakrabban a tejtermékekben és a nem tej alapú élelmiszerekben egyaránt.

A tejtermékek, és köztük a joghurt, alkalmasak olyan nagy hozzáadott értékkel rendelkező funkcionális élelmiszerek előállítására, melyek a probiotikumokat – természetes vivőanyagként – az emberi bélrendszerbe juttatják. A funkcionális élelmiszerek egyfajta határvonalat képeznek az élelmiszerek és a gyógyszerek között, ennél fogva napjainkban egyre inkább a figyelem középpontjába kerülnek egészségmegőrzést elősegítő képességük miatt. Bölcs alternatíva a

kiegyensúlyozott étrendbe beilleszteni ezeknek az egészségvédő komponenseknek a fogyasztását is. A tej és a fermentált tejtermékek gazdag forrásai olyan ágenseknek, melyek képesek kedvező hatást gyakorolni az emésztőrendszer működésére, a mikrobiomra és az immunrendszerre. Ez a kedvező hatás vagy közvetlen probiotikus hatás (kölsönhatás a mikroflórával), vagy közvetett biogén hatás (mikrobiális metabolitok termelése) révén valósul meg. Napjainkban a fogyasztók érdeklődése növekszik az egészség védelmét támogató, a primer prevenciót elősegítő élelmiszerek iránt. A közegészségügy stratégiai céljai közé tartozik a kiegyensúlyozott étrend élethosszigan való fenntartása, mivel ezzel számos betegség és betegséget megelőző/kiváltó állapot elkerülhető. Ide tartoznak az úgynevezett „nyugati betegségek” kialakulásával szorosan összefüggő állapotok, és megbetegedések, mint például az irritábilis bélszindróma (IBD), Crohn-betegség (CD), rák, kóros elhízás, 1-es és 2-es típusú cukorbetegség, policisztás ovárium szindróma (PCOS), bakteriális vaginózis (BV) és asztma.

A tejtermékek gyártása során keletkező tejsavó számos az egészségre nézve előnyös funkcióval rendelkezik, kedvező energiaforrás, magas esszenciális aminosav és oldható vitamintartalom, azonban hátránya, hogy viszonylag gyorsan romlásnak indul. A savó hasznosításának egyik lehetséges módja frissen történő felhasználása, fermentációs eljárással történő feldolgozása, közvetlenül a melléktermék keletkezési helyén.

PhD kutatómunkám fő célja egy olyan tejipari melléktermékkel (savóval) kiegészített ivójoghurt jellegű termék előállításának megalapozása volt, amely összetételénél fogva pro- vagy szinbiotikus, azaz a bél ökoszisztéma stabilizálásával egészségmegőrző hatású lehet. Továbbá vizsgáltam a LA-5 és BB-12 probiotikumok élettani hatásának

megnyilvánulását attól függően, hogy milyen vivőanyagban (élelmiszer-mátrix-szal, vagy étrendkiegészítő kapszulában) történik a bejuttatása.

A vizsgálati munkák előtt a következő fő célkitűzéseket fogalmaztam meg:

- Technológiai vizsgálatok elvégzése a termékgyártás jövőbeni megalapozása érdekében. A tejből és tej-savó elegyből készült hagyományos, probiotikus és szinbiotikus termékek mikrobiológiai, kémiai és érzékszervi jellemzőinek, valamint funkcionális technológiai szempontjainak vizsgálata a gyártást követően és a tárolás során. Annak megállapítása, hogy, a pro- és a prebiotikum, valamint a savó kiegészítés milyen hatást gyakorol ezekre a tulajdonságokra, megfelel-e a probiotikus csíraszám az előírásoknak, illetve van-e jelentős változás a termékek hűtve tárolása során.
- Szimulált humán emésztési vizsgálatok elvégzése annak megítélése érdekében, hogy milyen mértékű a hasznos baktériumok túlélése az emésztés során. A tejből és tej-savó elegyből készült hagyományos, probiotikus és szinbiotikus termékek, valamint az étrendkiegészítőként használt probiotikus kapszulák összehasonlítása abból a szempontból, hogy a vizsgált, élettanilag előnyös tulajdonságokkal rendelkező baktériumok milyen mértékben jutnak el *in vitro* körülmények között hasznosulási helyükre, a vastagbélbe.
- A probiotikus hatás előfeltételeinek megítélése érdekében a joghurt starterkultúra és a vizsgált probiotikus törzsek bélhámsejtekhez való tapadási képességének vizsgálata hidrofobicitás és adhéziós vizsgálattal *in vitro* körülmények között.

- A joghurt starterkultúra és a vizsgált probiotikus törzseknek a gyulladós folyamatokban játszott szerepének megfigyelése *in vitro* körülmények között.
- Annak vizsgálata, hogy a tejből készült hagyományos és probiotikus termékek, valamint az étrendkiegészítőként használt probiotikus kapszulák milyen mértékben képesek enyhíteni a mesterségesen kiváltott vastagbélgyulladás (colitis) tüneteit állatkísérletekben.

## 2. Anyagok és módszerek

A joghurt jellegű készítmények előállítására a Kaposvári Egyetem (MATE Kaposvári Campusának jogelődje) Technológiai Laboratóriumában, a Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ Élelmiszer-tudományi Kutatóintézetében, valamint az INRAE Micalis Kutatóintézetében (Jouy-en Josas, Franciaország) történt. A fermentált tejtermékek elkészítéséhez zsíros tejport, illetve édes savóport (Obert Kft, Kaposvár) használtam fel, melyből a termék specifikációjában leírtaknak megfelelő rehidratálással állítottam elő a felhasználásra kész tejet és az édes savót. A prebiotikumot tartalmazó termékekhez 3% Frutafit Inulin IQ inulint (DP $\geq$ 9) (Sensus, Roosendaal, Hollandia) adagoltam. A joghurtokat FD-DVS YF-L812 Yo-Flex (Chr. Hansen A/S, Horsholm, Dánia) többszörösen kevert törzsű starter kultúrával (*L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* és *S. thermophilus*), valamint FD-DVS BB-12 és LA-5 (*B. animalis* spp. *lactis* és *L. acidophilus*) probiotikus kultúrával ( $10^8$  CFU/g) (Chr. Hansen A/S, Horsholm, Dánia) készítettem el. A szintén vizsgált Bonolact<sup>®</sup> Pro+biotikum kapszulák (Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet, Mosonmagyaróvár), *B. animalis* spp. *lactis* BB-12-t és *L. acidophilus* LA-5 baktériumtörzseket tartalmaztak liofilizált formában, cellulóz kapszulában TransMatrix<sup>™</sup> védőkupakos csomagolásban. Egy kapszulában  $10^8$  CFU mennyiségű baktérium volt, mindkét törzsre vonatkozóan.

### *Technológiai vizsgálatok*

A termék tárolás alatti csíraszám változás ellenőrzéséhez, mikrobiológiai szélesztéses vizsgálatot végeztem el, az adott baktérium törzsnek

megfelelő szelektív táptalajokon vizsgáltam. Az érzékszervi bírálaton, a Kaposvári Egyetem dolgozói, valamint hallgatói közül 14 fő vett részt. A bírálaton részt vevő személyek, előzetes érzékszervi tréningen sajátították el a hagyományos natúr joghurt és ivójoghurt karakterisztikai tulajdonságait, melyre a későbbi, pontos összehasonlíthatóság céljából volt szükség. A tárolás folyamán az ivójoghurtok pH változását Testo 205 hordozható pH mérővel vizsgáltam (Testo, Reutlingen, Németország). A színmérést Minolta Chroma Meter CR-300 (Konica Minolta, Essex, UK) színmérővel végeztük el. A mérés alapja a CIELAB színrendszer, mely során regisztráljuk az „L\*“- „a\*“- és „b\*“- értékeket. A termék alvadék szilárdságának vizsgálata Zwick Roell Z005 statikus roncsolásos anyag-szerkezetvizsgáló műszerrel történt (Zwick Roell, Ulm, Németország). A készítmények alvadék szilárdságának a vizsgálatához, a mérés során az első összenyomásnál kifejtett legnagyobb maximális erő csúcsot, a 1st Fmax, First Maximum Force (N) értéket vettem alapul. A beltartalmi vizsgálatokat az alábbi szabványok alapján végeztem el: „Tej, tejszín és sűrített tej - A szárazanyag-tartalom meghatározása” MSZ EN ISO 6731; „A tej összes fehérjetartalmának meghatározása” MSZ 12325-82; „Tejszín, savanyú tej, tejszínkészítmények és ízesített tejtermékek zsírtartalmának meghatározása” MSZ 9602:1984. A laktóz tartalom meghatározása a „Savanyú tejkészítmények vizsgálati módszerei” MSZ 3725:1984 szabvány alapján történt.

### *Humán emésztés vizsgálatok*

A világszerte elismert, több nemzetközi kutatócsoport által elfogadott egyezményes COST Infogest *in vitro* emésztési modell vizsgálatot Minekus és mtsai (2014) által leírt módon hajtottam végre. Az



úgynevezett „vastagbél szakaszt” nem oltottam be, hanem 24 órán keresztül inkubáltam a vékonybél szakasz cymusát. A patogén gátlás vizsgálata céljából a mintát  $10^6$  CFU/ml *Cl. perfringens* és  $10^6$  CFU/ml *E. coli*-val oltottam be. A csíraszám meghatározáshoz használt táptalajoknál, a szelektivitási alkalmasságuk vizsgálatának céljából, mindegyik vizsgált baktérium esetén szelektivitási elő-kísérletet végeztem el.

### *In vitro vizsgálatok*

Az adhézión és az immunválasz vizsgálatokhoz a HT-29 és a Caco-2 humán vastagbél daganatból származó karcinóma/adenokarcinóma sejtvonalakat alkalmaztam (ATCC HTB38, ATCC HTB37, LGC Standards, Molsheim, Franciaország). A sejtvonalak fenntartása és a vizsgálatok kivitelezése a megadott protokollnak megfelelően történt. A tapadó baktériumok mennyiségének meghatározására során lemezöntést és ELISA tesztet (Biolegend, San Diego, US) alkalmaztam. A hidrofóbicitás vizsgálatához az oldószerekkel szembeni mikrobiális adhéziót (MATS) Vinderola és Reinheimer (2003) módszerével határoztam meg.

### *In vivo állatkísérlet*

A mérsékelt bélgyulladás előidézéséhez moderált dinitrobenzol-szulfonsav (DNBS) rágsáló modellt alkalmaztam. A vizsgálatához 7-8 hetes C57BL/6, csíramentes, steril egereket használtam fel, az INRAE Agrárkutató Intézet, állattartó- és kísérleti létesítményében (IERP, Jouy-en-Josas, Franciaország). Az egyenként körülbelül 20 g-os állatokat intraperitoneálisan érzéstelenítettem, ez után közvetlenül a vastagbélbe helyeztem egy 3.5 cm hosszúságú katétert (Solomon

Scientific, San Antonio, US) és fecskendővel (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Missouri, US) juttattam be 100 mg/testtömeg kg DNBS-t (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Missouri, US) 30% (v/v) etanolt tartalmazó foszfát pufferben feloldva (EtOH-PBS). A dózis 2 mg DNBS/egér volt. A kontroll csoportban lévő egerek, melyeknél nem idéztem elő bélgyulladást, ugyanezt a protokollt követve EtOH-PBS-t kaptak. Ezt követően, 10 nap elteltével, kezdtem el az állatok szondázását, mely során bejuttattam a vizsgált baktériumokat/joghurtokat/kapszulázott formulát, vagy PBS-t (kontroll csoport). Egy szondázás alkalmával intragasztrálisan 200 µL mennyiségű vizsgált anyagot juttattam be az állatba  $1 \times 10^8$  CFU mennyiségű baktériummal, és ezt 10 napon keresztül folytattam, ez volt az úgynevezett etetési-periódus. Az állatok bélrendszerében mesterségesen létrehozott gyulladást 21 nap elteltével az első DNBS bejuttatása után (gyógyulási-periódus) reaktíváltam, egy második 50 mg/kg DNBS dózis bejuttatásával.

Az állatokat kábítás után, nyaki diszlokációval leöltük, ezután a hasüreget felnyitottuk, a vastagbelet eltávolítottuk és hosszanti irányban felvagtuk. Ezt követően, a makroszkopikus értékek meghatározása érdekében, pontozásos módszerrel értékeltem a vastagbél károsodását. A bél áteresztő képesség detektálásához fluorescens izotiocianáttal konjugált dextránt használtam (FITC-dextran 3000-5000 Da, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Missouri, US). A plazma FITC-szinteket mikroplate-olvasóval ellátott fluoriméterrel határoztam meg (Tecan fluoreszcensz mikrolemes-olvasó, Tecan, Lyon, Franciaország). A mieloperoxidáz (MPO) aktivitást (a neutrofil infiltráció markere) Bradley és munkatársai (1982) által leírt protokoll módosított változatával mértem a disztális vastagbélből.

### 3. Eredmények

A célkitűzésekben megfogalmazott feladatok megvalósítása során először megvizsgáltam, hogy a készítményekben felhasznált LA-5 és BB-12 probiotikumok, az inulin prebiotikum, valamint a savó alkalmazása milyen mértékben változtatja meg a készítmények tulajdonságait a hagyományos joghurthoz viszonyítva. A termékgyártás jövőbeni megalapozása érdekében a készítményeket egy négy hetes hűtve tárolási periódus alatt is vizsgáltam, melynek során meghatároztam, hogy az idő függvényében és egymáshoz viszonyítva hogyan változik azok savassága, alvadék szilárdsága, CIELAB színkoordinátái, valamint humán érzékszervi jellemzői.

Ezt követően *in vitro* Infogest humán emésztési modellben megvizsgáltam, hogy a probiotikus baktériumok eljutnak-e kellően nagy csíraszámokban haszosulási helyükre, a vastagbélbe, illetve savó kiegészítés esetén is megvalósul-e a hatékony csíraszám fennmaradása. Az élelmiszer-mátrix hatás értelmezése miatt, a joghurt jellegű készítmények mellett, a probiotikumokat tartalmazó kapszulákat is megvizsgáltam ebből a szempontból.

A probiotikus hatás egyik napjainkban elismert aspektusa az immunmodulációs hatás kifejtése, melynek előfeltétele azonban a probiotikus baktériumok megtapadása és kolonizációja a vastagbélben. Ezért a következő lépésben ilyen szempontból vizsgáltam meg az általam alkalmazott joghurt starter kultúrát és probiotikus kultúrát. Meghatároztam a készítményekben található mikrobák *in vitro* hidrofobicitást, bélhámsejtekhez történő tapadási hajlandóságát (HT-29, Caco-2), mucin adhézióját, valamint immunválaszra kifejtett hatását (IL-

8). Ezt követően *in vivo* állatkísérletben DNBS indukált kolitisz egér modellt alkalmaztam a vizsgált mikrobák és a velük előállított tejes készítmények vastagbélgyulladásra gyakorolt hatásának megfigyelésére. Ennek értelmében az alábbi vizsgálatokat végeztem el: súlygyarapodás, makroszkopikus elváltozások értékelése, mieloperoxidáz aktivitás (MPO), és bél permeabilitás vizsgálat (FITC).

### *Technológiai vizsgálatok*

A tárolhatósági vizsgálat során megállapítottam, hogy a probiotikus törzsek (LA-5 és BB-12) csíraszama a négy hetes hűtve tárolási periódus alatt egyik készítmény esetében sem csökkent  $10^8$  CFU/ml alá. A savós termékek probiotikus csíraszama szignifikánsan nagyobb volt, mint a tejes termékeké ( $P < 0,05$ ). A probiotikus savós és a szinbiotikus savós készítmények is szignifikánsan különböztek egymástól ( $P < 0,05$ ) a probiotikus joghurtok csíraszama magasabb volt. A 100%-ban tejet tartalmazó probiotikus és a 3%-ban inulin hozzáadásával létrehozott szinbiotikus készítmények csíraszama nem különbözött szignifikánsan egymástól ( $P \geq 0,05$ ), tehát a tejes és a savós termékek esetében sem tapasztaltam, hogy az inulin pozitív hatást gyakorolt volna a csíraszámra a négy hetes hűtve tárolás során.

A készítmények pH-ja a tárolás időtartama alatt nem változott meg szignifikáns mértékben ( $P \geq 0,05$ ). A tejes joghurtok esetében, a starter kultúrát tartalmazó hagyományos joghurt pH-értéke kis mértékben, de szignifikánsan nagyobb volt, mint a probiotikus és szinbiotikus joghurtoké ( $P < 0,05$ ) ennek oka, feltehetőleg, a probiotikus törzsek jelenlétéhez köthető savanyító hatás. A hűtve tárolás során a savót tartalmazó és a tejes termékek esetében sem figyeltem meg szignifikáns változást a színkoordinátákban az idő függvényében.

Azonban, a készítményeket összehasonlítva, az inulinnal kiegészített savós szinbiotikus termék színe, a három színkoordináta közül az L\* színkoordináta, vagyis a világossági tényező szignifikánsan különbözött a többiétől ( $P < 0,05$ ), kis mértékben sötétebbek voltak.

Az alvadékszilárdság változatlan maradt a hűtve tárolás folyamán ( $P \geq 0,05$ ). A tej alapú joghurtnál az inulin hozzáadása előnytelen volt a kialakult gél szilárdsága szempontjából, azonban a savós termékek esetében az inulin kedvező hatást gyakorolt az alvadék-szilárdságra ( $P < 0,05$ ). A savós termékek fehérjetartalma szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) alacsonyabb volt, mint a tejes termékeké, valamint alacsonyabb ( $P < 0,05$ ) zsírtartalommal is rendelkeztek. Az érzékszervi vizsgálat eredményei alapján megállapítottam, hogy a tárolás hatására nem változott meg a 100%-ban tejalapú készítmények színe, illata, íze és állománya, és a savót is tartalmazó készítményeknél – a szín kivételével – szintén nem volt eltérés a vizsgált érzékszervi tulajdonságokban. A savós probiotikus termékeket a bírálók túl savanyúnak találták, ezért a probiotikumokat is tartalmazó savós termékek esetében a natúr joghurt helyett célszerűbb lenne a jövőben ízesített joghurtokat előállítani.

#### *Szimulált humán emésztési vizsgálatok*

Az *in vitro* humán emésztési modell vizsgálat során – mátrixtól függetlenül (joghurt, vagy kapszula) – a probiotikumok a terápiás célnak megfelelő mértékben (4-5 log CFU/g) voltak jelen a vékonybél szakasz végén. A két probiotikum (LA-5 és BB-12) a gyomor szakaszban, egyaránt rendkívül jó, közel 90%-os túlélési arányt mutatott, függetlenül attól, hogy kapszulákban vagy joghurt jellegű készítményekben történt a vizsgálatuk. Az inulin védő hatását nem tapasztaltam a gyomor traktus vizsgálata során.

A vékonybél szakasz során továbbra is érvényesült az a tendencia, hogy a két probiotikum ellenállóbbnak bizonyult az emésztőenzimekkel szemben, mint a starterkultúra törzsei. Az LA-5 és BB-12 túlélési aránya közel hasonló volt a savót is tartalmazó közegben, mint a csak tejet tartalmazóban. A BB-12 stabilabb volt a tejes közegben és a kapszulában a gyomor és a vastagbél szakasz során, mint az LA-5. Az inulin védő hatása a vékonybél szakasz során sem volt tapasztalható. Az emésztési fázisok kedvezőtlen körülményeivel szembeni ellenállás erősen függ az adott baktérium törzstől, vizsgálatomban ez meghatározóbb volt, mint az élelmiszermatrix jelenéte vagy hiánya, robusztus probiotikumok esetében az adott baktérium valamennyi mátrixban kedvezően viselkednek.

A BB-12 mennyisége a vastagbél szakaszban növekedésnek indult. A termékek patogén gátlását tekintve, a probiotikumok önmagukban és a savós joghurt jellegű készítmények egyaránt képesek voltak gátolni, 80% feletti mértékben, a 24 órás inkubálás során a *Cl. perfringens* növekedését, ezzel szemben egyik készítmény sem volt hatékony az *E. coli* szaporodásának gátlásában.

#### *In vitro* vizsgálatok

A hidrofobicitás vizsgálat során megállapítottam, hogy a BB-12 hidrofób jellege és kedvező elektron akceptor tulajdonsága a bélben való jó tapadási képességét valószínűsíti, amely be is igazolódott a Caco-2 sejtvonalal és a mucinnal végzett adhéziós vizsgálatoknál. A HT-29 sejtvonalhoz azonban a LA-5 szignifikánsan nagyobb mértékben ( $P < 0,05$ ) kötődött, mint a BB-12 és a *L. bulgaricus*.

Az immunválasz vizsgálat esetében megfigyelhető volt, hogy a két probiotikum (LA-5 és BB-12) és a starter kultúra törzsek közül a *L.*

*bulgaricus* szignifikáns mértékben csökkentette az IL-8 szekrécióját a TNF- $\alpha$ -val stimulált HT-29 sejtekben. A hatás azonban elmaradt, amikor a starter kultúra baktériumait együttesen vagy a probiotikumokkal együtt alkalmaztam.

#### *In vivo állatkísérlet*

Az *in vivo* állatkísérletekben, a vizsgált probiotikus törzsek önmagukban, élelmiszer-mátrix nélkül, jelentősen enyhítették a DNBS-sel kiváltott vastagbélgyulladás kedvezőtlen hatásait egerekben. A BB-12 és az LA-5 törzsek megakadályozták a súlycsökkenést, gátolták a makroszkópikus elváltozások és a gyulladásos folyamatok kialakulását (MPO), valamint használatukkal elkerülhető volt a bél áteresztőképességének (FITC) jelentős megnövekedése. A joghurtban bevitt BB-12 és LA-5 probiotikumok hatására csökkent a makroszkópikus elváltozások mértéke, valamint használatukkal nem következett be a bél áteresztőképességének jelentős megnövekedése a DNBS-sel kezelt egerekben.

#### 4. Következtetések

- Az 50% tejsavó 50% tej alapanyagból készült fermentált termékek fizikai, kémiai tulajdonságai és organoleptikus sajátságai eltértek a csak tej alapanyagból készült termékekétől. A savó alkalmazása, annak kis szárazanyag-tartalma miatt, ivójoghurt jellegű termék létrejöttét eredményezte (alvadék szilárdság vizsgálat). Az inulin – 3%-os mennyiségben (prebiotikumként történő alkalmazása mellett) – kedvezően befolyásolta a savós termékek reológiai tulajdonságait.
- A savó kiegészítéssel előállított alacsony zsírtartalmú pro- és szinbiotikus joghurt készítmények probiotikus csíraszám 4 hetes hűtve tárolás alatt az előírt érték felett maradt, illetve a tej felének savóval helyettesítése probiotikus csíraszám-növekedést eredményezett, ezért az 50% tejsavó 50% tej alapanyag alkalmas közeg megfelelő probiotikus csíraszám (BB-12 és LA-5) kialakítására és fenntartására joghurtban.
- A joghurt gyomor-bél traktuson történő áthaladás során (az *in vitro* humán emésztési vizsgálatok eredményei alapján) a savó-mátrix (50% savó-50% tej) csíraszámra gyakorolt hatása nem tért el a tej-mátrixétól. Ebből következik, hogy a probiotikus baktériumok (BB-12 és LA-5) túlélését a savó alkalmazása nem befolyásolta.
- Az emésztési fázisok kedvezőtlen körülményeivel szembeni ellenállás erősen függ az adott baktérium törzstől, vizsgálatomban ez meghatározóbb volt, mint az élelmiszer-mátrix jelenéte vagy hiánya. Az általam használt két probiotikum (LA-5



és BB-12) rendkívül robusztusnak bizonyult ebből a szempontból.

- Az alkalmazott starter kultúrában jelen lévő *L. bulgaricus* törzs immunválaszt indukáló hatása (IL-8) további *in vitro* és *in vivo* vizsgálatokat igényel. Az említett baktérium nem probiotikum, azonban az általa kiváltott hatást csak a probiotikusnak számító baktériumok váltják ki.
- A két probiotikum együttesen, illetve a starterkultúra a két probiotikummal együttesen nem indukált jelentős immunválaszt (IL-8), szemben az egyedi vizsgálatokkal. Az antagonista hatás hátterének felderítése további vizsgálatokat igényel.
- Az *in vivo* DNBS-indukált kolitisz állatkísérleti modellben a probiotikus kultúrák (LA-5 és BB-12) ömagukban csökkentették a betegség tüneteit, azonban ez a hatás kevesebb esetben volt kimutatható, amikor joghurt jellegű készítményekkel együtt adagoltuk azokat.

## 5. Új tudományos eredmények

1. Az 50% savóból és 50% tejből készült, joghurt starter kultúrával (*S. thermophilus*+ *L. bulgaricus*) alvasztott, probiotikus (LA-5 és BB-12,  $10^8$  CFU/ml) alacsony zsírtartalmú (normál joghurthoz képest  $P<0,05$ ) ivójoghurt kiegészítése 3% inulinnal kedvezően befolyásolta az alvadék szilárdságot. A négy hetes hűtve tárolási periódus során a probiotikumok csíraszám a kezdeti beállított érték fölött maradt ( $10^8$  CFU/ml), továbbá nem változott a termék pH-ja, színkoordináta értékei, valamint az illata, állománya és íze.
2. A 100% tejből, valamint az 50% tej és 50% savó keverékéből készült, joghurt starter kultúrával (*S. thermophilus*+ *L. bulgaricus*) alvasztott, probiotikus (LA-5 és BB-12  $10^8$  CFU/ml) joghurtoknál, és a szinbiotikus (3% inulin) joghurtoknál, a szimulált humán emésztési vizsgálatok során, a probiotikumok minden esetben a terápiás célnak megfelelő mértékben (4-5 log CFU/ml) voltak jelen a vékonybél szakasz végén, ugyanúgy, mint a liofilizált farmakológiai kapszula esetében. Ebből következik, hogy a vizsgált probiotikumok emésztési fázisok kedvezőtlen körülményeivel szembeni ellenállása *in vitro* függetlennek bizonyult az élelmiszermatrix összetételétől, valamint annak jelenététől vagy hiányától.
3. Az *in vitro* immunválasz (IL-8) vizsgálat során a starter kultúra *L. bulgaricus* törzse gyulladáscsökkentő hatást fejtett ki, mivel csökkentette az IL-8 szekréciónak TNF- $\alpha$ -val stimulált HT-29 sejtvonalban.
4. A 100% tejből készült, joghurt starter kultúrával (*S. thermophilus* és *L. bulgaricus*) alvasztott hagyományos joghurt; a probiotikus (LA-5

és BB-12  $10^8$  CFU/ml) joghurt; valamint a LA-5 és BB-12 probiotikus kultúrák önmagukban, egyaránt enyhítették a DNBS-sel kiváltott kolitisz egyes tüneteit egerekben. Gátolták a makroszkópikus elváltozások kialakulását a bélfalban, valamint használatukkal elkerülhető volt a bél áteresztőképességének jelentős megnövekedése.

## 6. Javaslatok

- Érdemes felülvizsgálni a savóról, mint környezetszennyező melléktermékről alkotott elképzelésünket és egy opcionálisan felhasználható, magas biológiai értékkel rendelkező, pozitív élettani hatással rendelkező alapanyagként tekinteni rá. Előnyös összetétele mellett azonban hátrány, hogy gyors mikrobiológiai romlásnak indul nagy víztartalma miatt. A savó hasznosításának egyik lehetséges módja különböző koncentrált termékek előállítása dehidratálással, azonban ennek megvalósításához beruházásigényes technológiai géppark kiépítésére van szükség. Az egyik megoldás a frissen történő felhasználásának megkönnyítésére a fermentációs eljárással történő feldolgozása jelentené közvetlenül a melléktermék keletkezési helyén.
- A savó alapanyaggal kiegészített termékek érzékszervi tulajdonságai (savanykás íz) ugyan eltértek a csak tej alapanyagból készült termékekhez viszonyítva, azonban ezt a kedvező piaci fogadtatása érdekében javíthatjuk íz és aroma anyagok, gyümölcs pulpok adagolásával.
- A savó alkalmazása, annak nagy víztartalma miatt, kedvezőtlen hatást gyakorol a joghurt jellegű termékek állagára. Az inulin kedvezően befolyásolta a savós joghurtok reológiai tulajdonságait, tehát a savó tartalmú termékek állagának javítására alkalmas lehet a prebiotikumként is használt inulin.
- Savó kiegészítéssel magas hozzáadott értékű, funkcionális, fermentált alacsony zsírtartalmú tejtermékeket van lehetőségünk előállítani, hiszen a tárolás alatti 4 héten keresztül a probiotikus

csíraszámot stabilan tartotta, illetve a gyomor-bél traktuson történő áthaladása során az 50% savó-50% tej mátrixban a probiotikum hasonló arányú túlélését tapasztaltuk, mint a tej-mátrixban.

- A starter kultúrában alkalmazott *L. bulgaricus* immunválaszt indukáló hatása (IL-8); továbbá az a jelenség, hogy a két probiotikum együttesen és a starter baktérium a két probiotikummal együttesen nem okozott jelentős hatást az immunválasz kiváltására, további vizsgálatokat igényel, a törzs specifikus, és dóziszfüggő hatások felmérése érdekében.
- Az *in vivo* DNBS-indukált kolitisz modellben a probiotikus kultúrák (LA-5 és BB-12) bélgyulladást enyhítő hatása előnyösebbnek bizonyult, mikor joghurt nélkül, ömagukban adagoltuk azokat. További vizsgálatot igényel, hogy ezt az eltérést az élelmiszer-mátrixban lévő mikro- és makronutriensek, vagy a starterkultúra egyes törzsei okozták-e.
- A statikus *in vitro* emésztési modellekkel kapcsolatban elmondható, hogy hatékony, olcsó, könnyen reprodukálható mivoltuk mellett számos tényezőt kell figyelembe vennünk, mely továbbfejlesztést igényel, hogy komplexitásukban minél közelebb kerüljenek az *in vivo* vizsgálatokhoz. A dinamikus és szemi dinamikus *in vitro* modellek megfelelnek ezen követelményeknek, azonban a dinamikus emésztési modellekhez komoly befektetést igénylő eszközpark szükséges, mely nem valósítható meg minden laboratóriumban. A köztes megoldást a szemi dinamikus modellek alkalmazása jelentheti. Fontos kijelenteni, hogy habár a statikus *in vitro* modellek rendkívül informatív adatokat szolgáltatnak, nem helyettesíthetőek az *in*

*vivo* kísérletekkel. Többnyire nem rendelkeznek az epithéliális nyálkahártya modellezésének lehetőségével, nincs kölcsönhatás a gazda szervezet immunrendszerével és nem állnak neuroendokrin szabályozás alatt.

- A vastagbél szakasz esetében alkalmazott modell széklet inokulum vagy kevert baktérium modell alkalmazásával fejleszthető tovább. A széklettel történő beoltás minden bizonnyal összetettebben modellezné a vastagbél szakaszt, azonban a humán mikrobióta komplexitása nagy mértékben megnehezíti a reprezentatív vizsgálatot, mivel a bél mikrobióta összetételét sok tényező befolyásolja (életkor, életmód, földrajzi régió, születés módja, anyatejes/tápszeres táplálás).

## 7. Az értekezés témaköréből írt tudományos közlemények

### *Tudományos folyóiratban megjelent közlemények*

Pápai; G.-Torres-Maravilla, E., Chain, F., Varga-Visi, É., Antal, O., Naár, Z., Bermúdez-Humarán, L., G., Langella, P., Martín, R. (2020) The administration matrix modifies the beneficial properties of a probiotic mix of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 and *Lactobacillus acidophilus* LA-5. Probiotics and Antimicrobial Proteins 2020 August DOI:10.1007/s12602-020-09702-2  
IF2020=3,53

Pápai, G., Szabó-Fodor, J.; Bóta, B.; Andrássyné, Baka G.; Antal, O. T.; Naár, Z.; Vargáné, Visi É., (2017) Savó hozzáadásának hatása pro- és szinbiotikus fermentált tejtermékek minőségére a tárolás során Élelmiszer - Tudomány Technológia 71 : 2 pp. 27-33. , 7 p.

Szabó-Fodor; J. Bónai; A., Bóta; B., Szommerné, Egyed; L., Lakatos; F., Pápai; G., Zsolnai; A., Glávits; R., Horvatovich; K., Kovács, M. (2017) Physiological Effects of Whey- and Milk-Based Probiotic Yogurt in Rats Polish Journal Of Microbiology 66 : 4 pp. 483-490. , 8 p. 2017

Varga-Visi; É. - Pápai, G. (2015) How to maintain the effective levels of probiotics throughout the shelf life in yoghurt: A review Acta Agraria Kaposváriensis 19 : 1 pp. 65-74. , 10 p.

*Konferencia kiadványban megjelent összefoglalók*

Pápai, G.; Szabó-Fodor, J. ; Bóta, B.; Naár, Z.; Vargáné, Visi É., (2017) A savó mint melléktermék felhasználása, magas hozzáadott értékű, pre- és probiotikus funkcionális fermentált tejtermék előállítása céljából pp. 16-16. In: Gelencsér, É; Horváth, Zné; Rurik, I; Tömösközi, S (szerk.) Táplálkozástudományi Kutatások VII. PhD konferencia : program és előadás összefoglalók Budapest, Magyarország: Magyar Táplálkozástudományi Társaság, 2017 p. 23

Pápai, G., Antal, O., Szabó, G., Szabó-Fodor, Judit., Vargáné Visi, É., Naár, Z. (2017) Szokványos, Probiotikus és Szinbiotikus joghurtok kölcsönhatása *in vitro* emésztési rendszerben alkalmazott vastagbél mikrobiota modellel Magyar Táplálkozástudományi Társaság XLII. Vándorgyűlés Siófok 2017. október12-14.

Pápai; G., Bónai; A., Bóta; B., Szabó-Fodor; J., Kovács; M., Varga-Visi, É. (2015) Whey is a promising media for producing a high microbial content pro- and synbiotic yogurt Journal Of Probiotics And Health 3 : 3 pp. 80-80. , 1 p.

Bónai, A.; Toldi, M.; Bóta, B.; Ölbeiné, Horvatic, K.; Bagóné, Vántus, V.; Tuboly, T.; Kachlek, M.; Hafner, D.; Pápai, G.; Zsolnai, A. (2014) Néhány probiotikus baktérium törzs mikrobiológiai vizsgálata – *in vitro* szimulált humán emésztést megelőzően és követően – tejipari termékfejlesztés céljából In: Anon (szerk.) XXXV. Óvári Tudományos Nap : A magyar és nemzetközi agrár- és élelmiszer-gazdaság lehetőségei



Mosonmagyaróvár, Magyarország : Nyugat-magyarországi Egyetem  
Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, 2014 pp. 49-49. , 1 p.