

ZÖLDSÉGALAPÚ PROBIOTIKUS KÉSZÍTMÉNYEK EGÉSZSÉGVÉDŐ KOMPONENSEINEK VIZSGÁLATA

Szabó Gergely Tibor¹, Bujna Erika², Fodor Marietta¹, Papp Nóra¹,
Stefanovits-Bányai Éva¹, Stégerné Máté Mónika³, Furulyás Diána^{1,3}

¹ Alkalmazott Kémia Tanszék, Szent István Egyetem, H-1118 Budapest, Villányi út 29-43,
Magyarország

² Sör és Szeszipari Tanszék, Szent István Egyetem, H-1118 Budapest, Villányi út 29-43,
Magyarország

³ Konzervtechnológiai Tanszék, Szent István Egyetem, H-1118 Budapest, Villányi út 29-43,
Magyarország

e-mail: furulyas.diana@etk.szie.hu

Absztrakt

Napjainkban a funkcionális élelmiszer kifejezés egyre nagyobb teret hódít, azonban szervezetünk számára szükséges probiotikumok bevitelére nem minden ember számára történhet azonos úton. Azok számára, akik laktóztoleranciával vagy tejcukor érzékenységgel élnek együtt, a tej alapú probiotikus készítmények fogyasztása nem egy járható út, így számukra alternatív megoldást kell biztosítani. Kísérletünk során három kereskedelmi forgalomban kapható zöldséglevet (paradicsomlé, sárgarépalé, céklalé) vizsgáltunk, melyek mindegyikét probiotikus *Bifidobacterium lactis Bb-12* törzssel oltottunk be, majd 3 hetes tárolási kísérlet alatt vizsgáltuk az antioxidáns hatású vegyületek mennyiségét három különböző módszerrel. Mértük a polifenol tartalmát (TPC), troloxra vonatkoztatott (TEAC) és vasredukálóképességen alapuló (FRAP) antioxidáns kapacitását. Az eredmények kiértékelése után megállapítható, hogy a vizsgált módszerekkel a legtöbb esetben az antioxidáns hatású összetevőkben nem mutatható ki szignifikáns változás a fermentálást követően, valamint a céklalé kiemelkedően nagy mennyiségű antioxidáns tulajdonságú komponenseket tartalmaz, melyet a fermentálás után kisebb csökkenést mutatva, de továbbra is jelentős mennyiségben őriz meg.

Bevezetés

A „funkcionális” élelmiszer kifejezést a japán kormány használta először az 1980-as évek közepén [1]. Olyan, a normális étrend részét képező élelmiszereket soroltak ide, melyek az alap táplálkozási értékeken túl egyéb, jól definiált, élettanilag kedvező hatásokkal is rendelkeznek, így csökkentve a krónikus betegségek kockázatát [2-3]. A funkcionális élelmiszerekben komplex módon vannak jelen különböző bioaktív vegyületek. Ide tartoznak azok az élelmiszerek is, melyek prebiotikumokat és probiotikumokat tartalmaznak [4]. A FAO/WHO [5] a probiotikumokat olyan mikroorganizmusoknak nevezi, melyek a szervezetbe megfelelő mennyiségben bejuttatva a bél mikroflóra összetételét és ezáltal az általános egészségi állapotot kedvező irányba befolyásolhatják. A probiotikumok túlnyomó része természetes tagja a bélmikrobiótának, legtöbbjük a *Bifidobacterium* és a *Lactobacillus* nemzetségből származik, de ismertek *Saccharomyces*, *Lactococcus*, *Streptococcus* nemzetségből származó probiotikus törzsek is. A *Bifidobacterium* és a *Lactobacillus* nemzetség probiotikus törzseit elterjedten alkalmazzák tejalapú probiotikus termékekben [6]. Mivel a tejfehérje allergia és a laktóztolerancia akadályt képez a tej alapú probiotikumok korlátlan fogyasztásában, a nem tej alapú probiotikus élelmiszerek előállítására, hatalmas előny jelent azoknak a fogyasztóknak, akik ilyesfajta intoleranciával élnek együtt. Különösen a

gyümölcs és zöldség alapú probiotikus termékek jöhetnek szóba. A probiotikus baktériumok hordozó mátrixaként kiemelten vizsgálták a gyümölcs- és zöldségleveket [7-9].

A nyers és fermentált zöldségek és gabonaszármazékok fogyasztása is különösen kedvező lehet, mivel az ezekben levő tápanyagokat a probiotikus baktériumok könnyen hasznosítják [10-12].

Az egyik legígéretesebb zöldségalapú probiotikus termék a sárgarépa, ami az egyik leggyakrabban használt zöldségek közé tartozik, gazdag vitaminokban (A, D, B, E, C, K) és ásványi anyagokban (kalcium, kálium, foszfor, nátrium, vas). A sárgarépalé alkalmazhatóságát zöldségalapú probiotikus terméként, már korábban vizsgálták Kun és munkatársai [13]. Megállapították, hogy a *Bifidobacterium*-ok képesek tápanyag kiegészítés nélkül is jól szaporodni a sárgarépalében.

Kísérleteink célja, zöldség alapú probiotikus mikroorganizmussal fermentált zöldség (paradicsom, répa, cékla) készítmények vizsgálata, mely fogyasztásával elérhető a kívánt pozitív egészségügyi hatást a laktóztoleranciában szenvedő fogyasztóknak is.

Anyagok és módszerek

Kutatásunk során *Bifidobacterium lactis Bb-12* törzssel dolgoztunk, mely a Chr. Hansen cégtől került beszerzésre. A törzset folyadéktenyészet formájában, TPY tápközegben 37°C-on anaerob körülmények között tartottuk fenn, anaerob jar alkalmazásával. Többszöri átoltást végeztünk a mérések előtt, hogy minél hatékonyabban szaporodjon a kísérletben részt vevő baktérium törzs. A mérések során használt BIO zöldséglevelek kereskedelmi forgalomból kerültek beszerzésre 500 ml-es kiszerelésben.

Erjesztés körülményei:

A zöldséglevelek kezdeti pH értékét pH=6 körüli értékre állítottuk be (Mettler-Toledo típusú elektronikus pH mérő műszerrel), 1n NaOH-dal, a mikroorganizmus optimális szaporodási tartományának elérése érdekében. A mintákat 100 ml-es steril lombikokba adagolva 100 ml-ként majd 1 ml (1v/v%) *B. lactis Bb-12* törzssel oltottuk be, ezt követően 37°C-on inkubáltuk, anaerob körülményeket biztosítva. A fermentáció során, meghatározott időközönként, mintát vettünk, a pH értékeket rögzítettük, majd további feldolgozásig hűtőszekrényben tároltuk. A mintavételek a 0. időponttól kezdve 3 óránként, illetve további 3 hétig tartó tárolási időintervallumban hetente történt.

Antioxidáns kapacitás vizsgálata a fermentáció során háromféle módszerrel történt:

- Az **összes polifenol tartalmat** (TPC) Folin-Ciocalteu reagens segítségével Singleton és Rossi módszerével [14] spektrofotometriás úton $\lambda=760$ nm-en határoztuk meg, galluszsavból készült kalibrációs görbe segítségével. Az eredményeket mM GS/L-ben adtuk meg.
- **Troloxra vonatkoztatott antioxidáns kapacitás** (TEAC - Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) mérésekor Miller és munkatársai nevéhez [15] fűzhető módszerre támaszkodtunk. A reakció az ABTS (2,2'-azino-di-(3-etilbenzotiazolin)-6-szulfoninsav) oxidációján alapszik. A reakció spektrofotometriásan nyomon követhető $\lambda=734$ nm-en. Az eredményeket mM Trolox/L-ben adtuk meg.
- Az antioxidáns kapacitást **FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma)** módszerrel, spektrofotometriás úton, $\lambda=593$ nm-en határoztuk meg [16]. A mérés lényege, hogy a ferri-(Fe³⁺) ionok antioxidáns aktivitású vegyületek hatására ferro-(Fe²⁺) ionokká redukálódnak, amelyek alacsony pH-n a tripyridil-tiazinnal (TPTZ = 2,4,6 tripyridil-s-

triazin) színes komplexet (ferro-trypiridil-triazin) képeznek. Az eredményeket aszkorbinsavval készített kalibrációs görbe segítségével mM AS/L-ben adtuk meg.

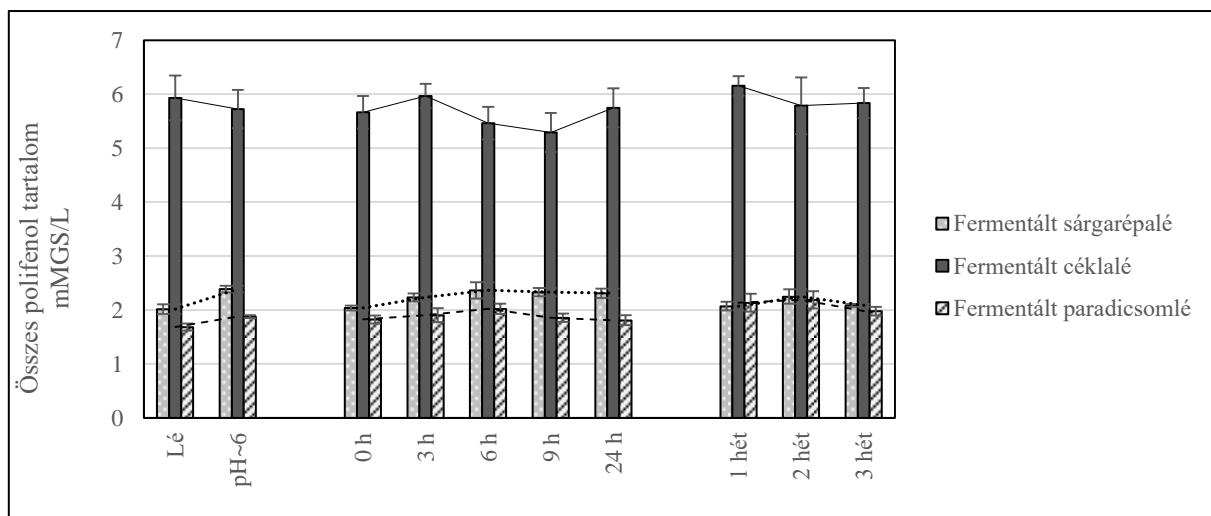
- A statisztikai kiértékelést Microsoft Excel program segítségével végeztük. AZ alkalmazott *Student t-teszt* megmutatta, hogy az eltérések statisztikai szempontból azonosnak tekinthetőek-e 95%-os konfidenciaszint mellett.

Eredmények és értékelés

A probiotikummal beoltott zöldséglevelek sejtszámát ellenőrizve a harmadik hónap végére is 10^8 TKE/ml nagyságrendűek voltak, amik megfelelnek a Magyar Élelmiszerkönyv előírásának, mely szerint a probiotikumot tartalmazó élelmiszereknek a minőségmegőrzési határidőn belül legalább 10^6 TKE/ml probiotikus élőscsira számmal kell rendelkeznie.

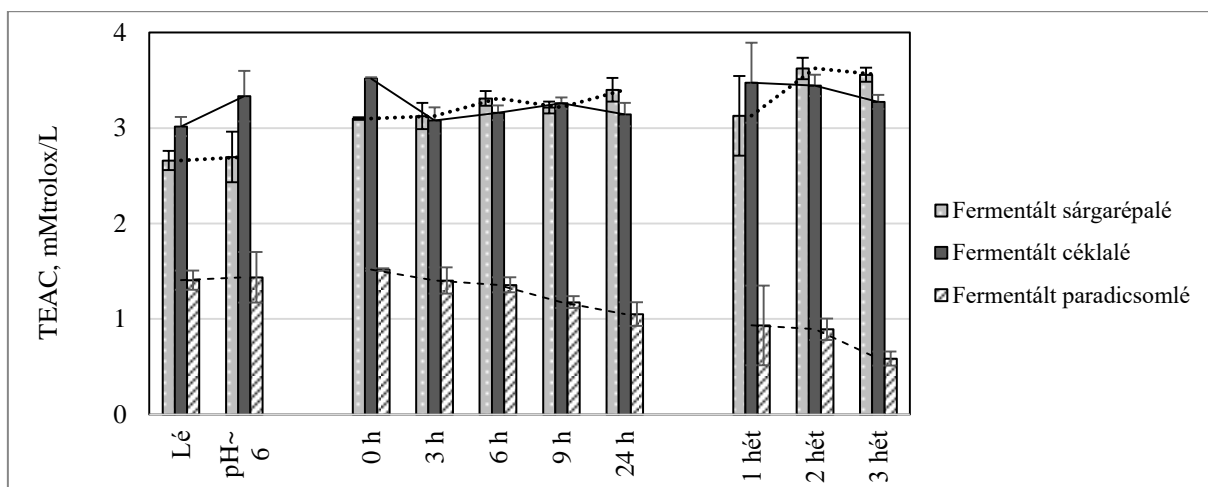
A beoltás hatására történő antioxidáns kapacitás változását három módszerrel (TPC, TEAC, FRAP) mért eredmények alapján vizsgáltuk.

A zöldséglevelekben mutakozó polifenolos vegyületekre utaló különbségek (1. ábra) alapján elmondható, hogy a céklalé mutatja a legnagyobb polifenol tartalom értéket ($>5,29$ mM GS/L), majd a sárgarépalé ($>2,01$ mM GS/L) és a paradicsomlé ($>1,68$ mM GS/L) következik. Vonatkozik ez a kezdeti (*Lé*) és a pH beállítás ($pH \sim 6,0$) utáni állapotra, valamint a fermentált levekre egyaránt, melyekből az első 9 órában három óránként (*0h, 3h, 6h, 9h*), majd 24 óra elteltével (*24h*) vettünk mintát. A tárolást három hétig végeztük, heti mintavételezéssel (*1 hét, 2 hét, 3 hét*).



1. ábra Zöldséglevelek összes polifenol tartalmának (TPC) alakulása *Bb-12* törzs beoltása esetén

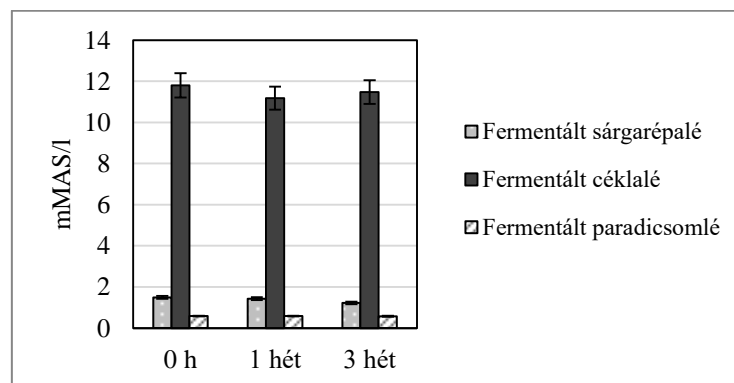
Az egyes zöldséglevelekben az oltás utáni állapotokat elemezve, a paradicsomlé egészségre kedvező hatást mutató polifenol tartalma szignifikánsan nem változott a 3 hetes tárolási idő alatt. Feltételezhető tehát, hogy a mikrobák anyagcsere tevékenysége nem befolyásolta a polifenol tartalmat. Hasonlóan kedvező, egészségvédő hatását megőrizve alakultak a polifenolos komponensek, a sárgarépalé és céklalé mintákban is.



2. ábra Fermentált zöldséglevelek gyökfogyó képességének (TEAC) alakulása *Bb-12* törzs beoltása esetén

A TEAC módszer eredményeinek (2. ábra) kiértékelésénél látható, hogy a paradicsomlé esetében a polifenol tartalomhoz hasonlóan, a fermentálás nem okozott szignifikáns változást az AOK értékekben. A sárgarépalé *Bb-12* törzsszel történő beoltásakor a harmadik hét végére statisztikailag is értékelhető növekedést mértünk a kezdeti állapothoz képest. Feltételezhetően a sárgarépalében jelenlévő, valamely AOK-ért felelős komponens/komponensek növekedésére vagy pedig valamely komponensben kedvező irányba megváltozó átalakulására utalhat ez a tendencia.

A céklalé beoltása kapcsán mért troloxra vonatkoztatott értékek a kezdeti állapothoz képest 61,28%-os csökkenést mutatott, mely jelentős nagyságrendi változást jelent (1,63mM Trolox/l-ről 0,663mM Trolox/L-re). A sárgarépalé esetében mérhető a legmagasabb TEAC érték (3,45 mM Trolox/L), ebben az esetben a fermentálás hatására szignifikáns (+14,79%) növekedés mérhető a 3. heti tárolás végére.



3. ábra Zöldséglevelek antioxidáns kapacitásának (FRAP) alakulása *Bb-12* törzs beoltása esetén

A vasredukáló képességen alapuló módszerrel mért AOK értékek kapcsán (3. ábra) a beoltás utáni (0 h) az egy hetes és a háromhetes időpontban vizsgáltuk a beoltott mintákat. A FRAP módszerrel mért antioxidáns kapacitás kapcsán elmondható, hogy mind a három zöldséglé esetében gyenge csökkenés mutatkozik, ami azt jelentheti, hogy a vasredukáló képességet befolyásolják a probiotikumok beoltása a vizsgált 3 hetes időintervallumban. A céklalé FRAP

értékét vizsgálva ismét észrevehető a kiemelkedő (>11,17mMAs/L) mértékű antioxidáns kapacitásának eredménye, amely egy nagyságrenddel nagyobb a másik két zöldséglé esetében mért értéknél.

Következtetés

Kísérletünkben *Bifidobacterium lactis Bb-12* törzs beoltásával előállított fermentált zöldséglevek (sárgarépa, cékla, paradicsom) antioxidáns aktivitásának változását vizsgáltuk a beoltástól számítva 3 hetes tárolási időintervallumban.

Eredményeink alapján, a zöldségalapú készítmények igen innovatív megoldásnak ígérkeznek, hiszen az általunk végzett vizsgálatokból feltételezhető, hogy egészségvédő hatásukat megőrizve, megfelelő tápközegnek bizonyulnak a probiotikumok számára. A zöldséglevek közül az antioxidáns vizsgálatokban a céklalé mutatott kiemelkedő eredményeket magas polifenol és antioxidáns tartalma miatt, azonban a sárgarépalé a három hetes tárolás alatt képes volt megőrizni a benne lévő antioxidáns hatású vegyületeket, szignifikáns csökkenést egyik mérésünk esetében sem tapasztaltunk. További vizsgálatok szükségesek a zöldségkészítmények pozitív tulajdonságainak feltérképezésére, de elő kísérleteink alapján elmondható, hogy fogyasztással a probiotikus tulajdonságaik mellett az antioxidáns hatásuk is hozzájárulhat az egészségünk megővéséhez, így azok a fogyasztók is hozzájuthatnak ilyen egészségvédő termékekhez, akik egyéb tejalapú probiotikus készítményt nem fogyaszthatnak.

Irodalomjegyzék

- [1] C.O. FOSHU Japanese regulations for probiotic foods. Enfield, CT: CRC Press, Science Publishers, 2011, pp. 33–40.
- [2] A. Cenci, W. Chingwaru, *Nutrients*, 2, (2000) 611–625.
- [3] P.C. Stringheta, T.T. Oliveira, R.C. Gomes, M.P.H. Amaral, A.F. Carvalho, M. A. P. Vilela, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 43, (2007) 181–194.
- [4] G. Ares, A. Giménez, A. Gábaro, *Food Quality and Preference*, 20, (2009) 50–56.
- [5] FAO/WHO, Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, (2001) Córdoba, Argentina.
- [6] M. Saarela, G. Mogensen, R. Fondén, J. Mättö, M.T. Sandholm, *Journal of Biotechnology* 84(3), (2000) 28.
- [7] C. L. Nicolesco, L.C. Buruleanu, *Bulletin UASVM Agriculture*, 67, (2010) 352–359.
- [8] S.Nualkaekul, D. Charalampopoulos, *International Journal of Food Microbiology*, 146, (2011) 111–117.
- [9] A. L. F. Pereira, T. C. Maciel, S. Rodrigues, *Food Research International*, 44, (2011) 1276–1283.
- [10] Y. Kourkoutas, M. Kanellaki, A. A. Koutinas, *WT- Food Science and Technology*, 39, (2006) 980–986.
- [11] C. M. Peres, C. Peres, A. Hernández-Mendoza, F. X. Malcata, *Trends in Food Science & Technology*, 26, (2012) 31–42.
- [12] C. R. Soccol, L. P. S. Vandenberghe, M. R. Spier, A. B. P. Medeiros, C. T. Yamagishi, J. D. Lindner, *Food Technology Biotechnology*, 48, (2010) 413–434.
- [13] Sz. Kun J. Rezessy-Szabó D.Q. Nguyen A. Hoschke, *Process Biochemistry*, 43(8), (2008) 816–821.
- [14] V.L. Singleton, J.A. Rossi, *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3) (1965) 144–158.

- [15] N.J. Miller C. Rice-Evans M.J. Davies V. Gopinathan A. Milner, *Clinical Science*, 84(4) (1993) 407-412
- [16] I.I.F. Benzie, J.J. Strain, *Analytical Biochemistry*, 239. (1966) 70-76.