



SZÉCHENYI
ISTVÁN
EGYETEM

MEZŐGAZDASÁG- ÉS
ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR



**TEJSÁVBAKTÉRIUMOK ÉS BIFIDOBAKTÉRIUMOK
ÉLŐSEJT-SZÁMÁNAK SZELEKTÍV MEGHATÁROZÁSÁRA SZOLGÁLÓ
MÓDSZEREK ÖSSZEHASONLÍTÓ ÉRTÉKELESE ÉS ALKALMAZÁSA
SAVANYÚ TEJTERMÉKEK MIKROBIOLÓGIAI MINŐSÉGÉNEK
ELLENŐRZÉSÉRE**

Dr. Süle Judit¹ - Prof. Dr. Varga László²

¹ Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet Kft., Biológiai K+F+I Osztály, Mosonmagyaróvár

² Széchenyi István Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszer-tudományi Kar, Élelmiszer-tudományi Tanszék,
Mosonmagyaróvár

Gyöngyös, 2017. augusztus 23.

BEVEZETÉS

Probiotikumok:

Szervezetbarát bélbaktériumok (tejsavbaktériumok, ill. bifidobaktériumok), amelyek többféle jótékony hatást gyakorolnak a gazdaszervezet egészségi állapotára.

Probiotikus tejtermékekkel szembeni elvárás:

min. 10^6 TKE/ml élő probiotikus baktérium jelenlétét követeli meg a Magyar Élelmiszerkönyv a minőség-megőrzési időtartam végéig.

Probiotikus savanyú tejtermékek előállításához kiváló alapanyagul szolgálnak:

- Tehéntej
- Tevetej

Méz:

- Természetes eredetű édesítőszer
- Különféle oligoszacharidokat tartalmaz
- A nemzetközi szakirodalmak a mézek mikrobaserkentő, ill. mikrobagátló hatásairól számoltak be.

CÉLKITŰZÉSEK

Kísérleteink során célul tűztük ki:

- Tejsavbaktériumok és bifidobaktériumok szelektív elkülönítési módszereinek tisztázását.
- Tevetejből és tehéntejből akácméz és ABT-5 kultúrával savanyított tejtermék kultúrából származó (A: *Lactobacillus acidophilus*, B: bifidobaktériumok, T: *Streptococcus thermophilus*) hasznos mikroorganizmusainak élősejt-szám változását nyomon kövessük.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Tejsavbaktériumok és bifidobaktériumok szelektív kimutatása

1. táblázat: Az első kísérletsorozatban felhasznált tejsavbaktérium- és bifidobaktérium-törzsek

Faj	Törzs
<i>Bifidobacterium breve</i>	M-16V
<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i>	BB-12
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	LA-5
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	NCAIM B.02085
<i>Lactobacillus casei</i>	NCAIM B.01137
<i>Lactobacillus casei</i>	MTKI-R
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	CH-2
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	YC-X11
<i>Streptococcus thermophilus</i>	TH-4
<i>Streptococcus thermophilus</i>	DSM 20479
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	VK-256
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	ATCC 19435
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i>	ATCC 19255

2. táblázat: Tejsavbaktériumok és bifidobaktériumok elősejt-számának meghatározására alkalmazott módszerek

Tápközeg	Inkubációs		
	hőfok (°C)	idő (h)	körülmények
CASO agar ¹	Az adott törzs (faj) igényeinek megfelelő		
MRS pH 5,4 agar	45	48	Anaerob
MRS pH 5,4 agar	37	72	Anaerob
MRS pH 6,2 agar	37	72	Anaerob
M17 agar	45	24	Aerob
M17 agar	37	48	Aerob
MRS–CC agar ²	37	72	Anaerob
TOS–MUP agar ³	37	72	Anaerob

¹ CASO agar

² Clindamycinnel és ciprofloxacinnal kiegészített De Man–Rogosa–Sharpe (MRS) agar

³ Lítium–mupirocinnal (MUP) kiegészített transzgalaktozilált oligoszacharid (TOS) agar

Eredmények és értékelésük I.

3. táblázat: *Bifidobacterium* (B.) és *Lactobacillus* (Lb.) fajok egytörzs-tenyészetekének* számbeli meghatározása különféle tápközegek és tenyésztési körülmények alkalmazásával

Baktériumtörzs	Tápközeg, inkubációs hőfok, inkubációs idő és légköri körülmények							
	CASO agar	TOS–MUP agar, 37°C, 72 h, anaerob	MRS–CC agar, 37°C, 72 h, anaerob	MRS pH 6,2 agar, 37°C, 72 h, anaerob	MRS pH 5,4 agar, 37°C, 72 h, anaerob	MRS pH 5,4 agar, 45°C, 48 h, anaerob	M17 agar, 37°C, 48 h, aerob	M17 agar, 45°C, 24 h, aerob
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> BB-12	8,33 ± 0,18 ^b	9,30 ± 0,12 ^a	< 6,00	8,07 ± 0,14 ^b	< 6,00	< 6,00	< 6,00	< 6,00
<i>B. breve</i> M-16V	8,05 ± 0,11 ^c	8,76 ± 0,02 ^a	< 6,00	8,61 ± 0,04 ^b	< 6,00	< 6,00	< 6,00	< 6,00
<i>Lb. acidophilus</i> LA-5	8,20 ± 0,05 ^b	< 6,00	8,30 ± 0,10 ^{ab}	8,34 ± 0,02 ^a	8,33 ± 0,02 ^a	8,42 ± 0,11 ^a	7,84 ± 0,07 ^c	< 6,00
<i>Lb. acidophilus</i> NCAIM B.02085	8,22 ± 0,06 ^b	< 6,00	8,54 ± 0,17 ^a	8,54 ± 0,04 ^a	8,54 ± 0,03 ^a	8,51 ± 0,14 ^a	8,17 ± 0,09 ^b	< 6,00
<i>Lb. casei</i> NCAIM B.01137	7,70 ± 0,19 ^a	< 6,00	7,30 ± 0,24 ^a	7,58 ± 0,08 ^a	7,56 ± 0,08 ^a	< 6,00	7,76 ± 0,28 ^a	7,45 ± 0,17 ^a
<i>Lb. casei</i> HDRI-R	7,86 ± 0,15 ^a	< 6,00	7,88 ± 0,18 ^a	7,80 ± 0,17 ^a	7,64 ± 0,12 ^a	< 6,00	7,20 ± 0,15 ^b	7,30 ± 0,11 ^b
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> YC-X11	6,30 ± 0,18 ^b	< 6,00	< 6,00	6,78 ± 0,05 ^a	6,48 ± 0,09 ^b	< 6,00	< 6,00	< 6,00
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> CH-2	6,70 ± 0,18 ^b	< 6,00	< 6,00	7,11 ± 0,09 ^a	6,30 ± 0,33 ^b	< 6,00	< 6,00	< 6,00

* Az adatok 4 vizsgálat (2 párhuzamos × 2 ismétlés) log₁₀ cfu/ml átlag ± szórás értékeit jelölik.

abc Az ugyanabban a sorban szereplő eltérő betűjelzésű átlagok szignifikánsan különböznek egymástól (P < 0,05).

Eredmények és értékelésük II.

4. táblázat: Tejsavbaktériumok egytörzs-tenyészeinek számbeli meghatározása* különféle tápközegek és tenyésztési körülmények alkalmazásával

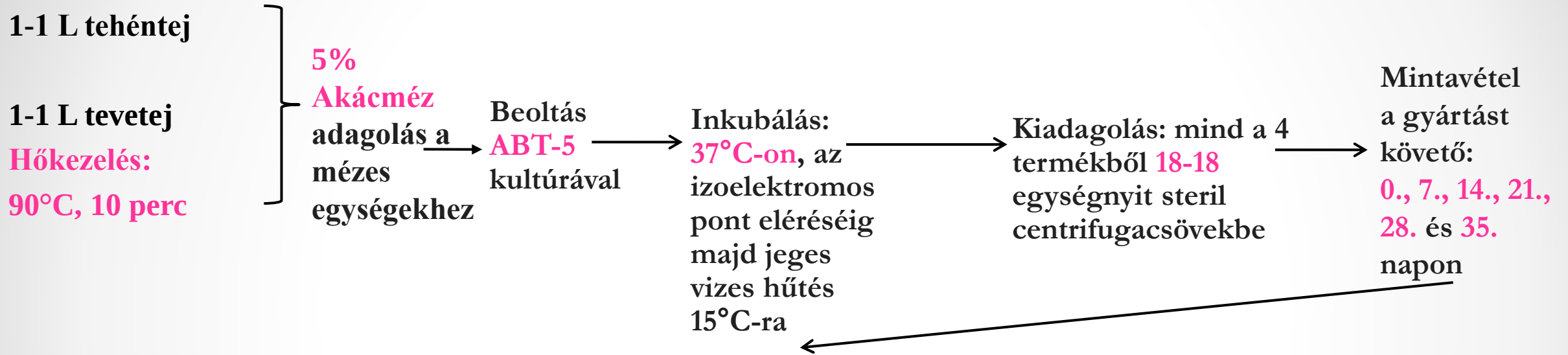
Baktériumtörzs	Tápközeg, inkubációs hőfok, inkubációs idő és légköri körülmények							
	CASO agar	TOS–MUP agar, 37°C, 72 h, anaerob	MRS–CC agar, 37°C, 72 h, anaerob	MRS pH 6,2 agar, 37°C, 72 h, anaerob	MRS pH 5,4 agar, 37°C, 72 h, anaerob	MRS pH 5,4 agar, 45°C, 48 h, anaerob	M17 agar, 37°C, 48 h, aerob	M17 agar, 45°C, 24 h, aerob
<i>Streptococcus thermophilus</i> TH-4	7,43 ± 0,12 ^a	< 6,00	< 6,00	< 6,00	< 6,00	< 6,00	7,57 ± 0,13 ^a	6,78 ± 0,18 ^b
<i>Streptococcus thermophilus</i> DSM 20479	8,05 ± 0,22 ^a	< 6,00	< 6,00	< 6,00	< 6,00	< 6,00	7,89 ± 0,17 ^a	6,90 ± 0,18 ^b
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> ATCC 19435	7,98 ± 0,17 ^a	< 6,00	< 6,00	7,81 ± 0,07 ^a	< 6,00	< 6,00	7,71 ± 0,19 ^a	< 6,00
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i> VK-256	7,18 ± 0,12 ^a	< 6,00	< 6,00	< 6,00	< 6,00	< 6,00	6,30 ± 0,27 ^b	< 6,00
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i> ATCC 19255	7,80 ± 0,18 ^a	< 6,00	< 6,00	< 6,00	< 6,00	< 6,00	< 6,00	< 6,00

* Az adatok 4 vizsgálat (2 párhuzamos × 2 ismételés) log₁₀ cfu/ml átlag ± szórás értékeit jelölik.

abc Az ugyanabban a sorban szereplő eltérő betűjelzésű átlagok szignifikánsan különböznek egymástól (P < 0,05).

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

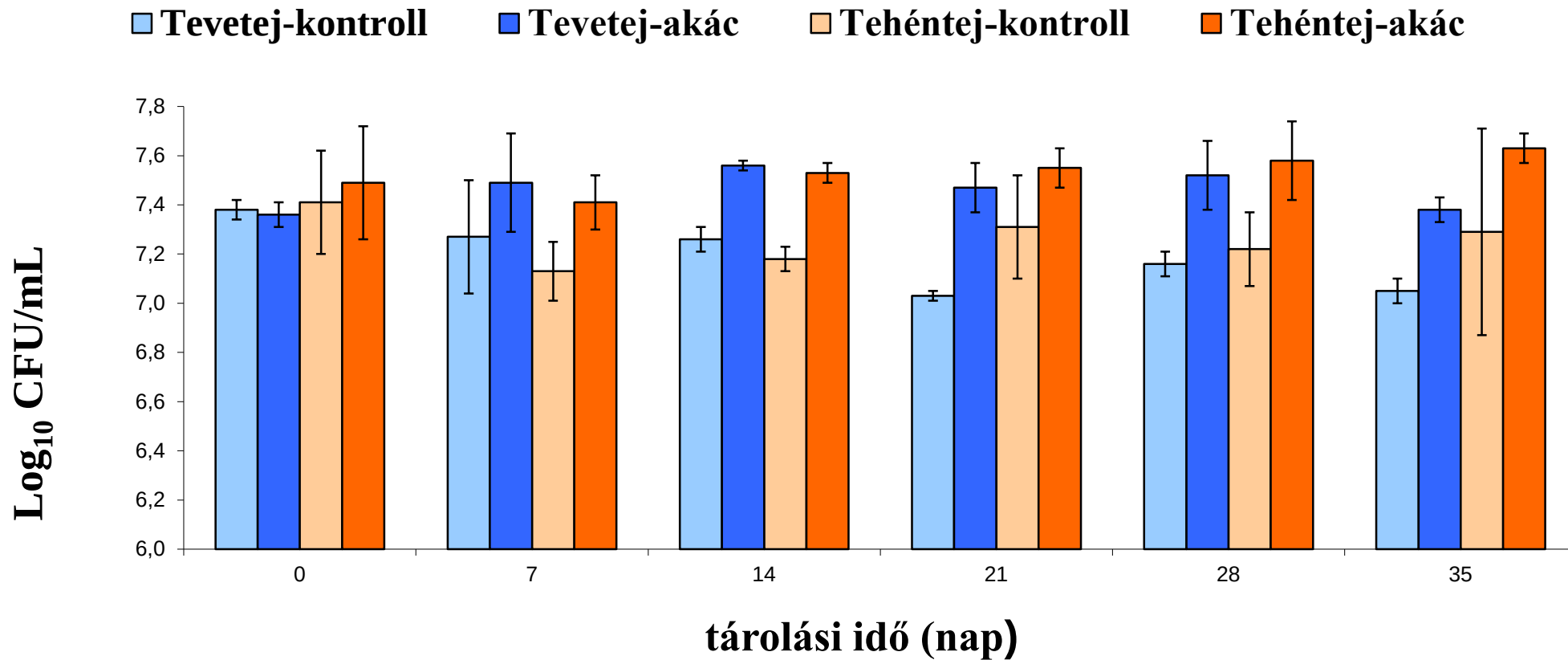
Tehén- és tevétej alapú probiotikus savanyú tejtermékek előállítása és vizsgálata



Mikrobiológiai vizsgálatok lemezöntéssel módszerrel:

1. *Streptococcus thermophilus* CHCC 742/2130: M17 agar, 45°C, 24 órás aerob inkubáció
2. *Lactobacillus acidophilus* LA-5: MRS-CC agar, 37°C, 72 órás anaerob inkubáció
3. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12: TOS-MUP agar, 37°C, 72 órás anaerob inkubáció

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK - TEHÉNTÉJBŐL ÉS TEVETÉJBŐL KÉSZÍTETT NATÚR ÉS AKÁCMÉZES PROBIOTIKUS SAVANYÚ TEJTERMÉKEK VIZSGÁLATA



1. ábra: *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 élősejt-számának változása tehéntejből, ill. tevetejből készített kontroll és akácmézes probiotikus ABT típusú savanyú tejtermékek 4°C-on történő tárolása során

Új tudományos eredmények I.

1. A **CASO agar**, 37°C-on 72 órán keresztül **anaerob** körülmények között inkubálva, alkalmas a savanyú tejtermékek előállításához elterjedten alkalmazott probiotikus baktériumok (***Lactobacillus*** és ***Bifidobacterium spp.***) **összes élősejt-számának meghatározására**; az 5,4-es pH-értékű MRS táptalaj pedig – ugyanilyen inkubációs viszonyok mellett – célszerűen alkalmazható a *Lactobacillus* fajok szelektív elkülönítésére és számbeli meghatározására.

2. A 37°C-on 72 óráig **anaerob** módon inkubált, 50 mg/l lítium–mupirocinnal kiegészített, transzgalaktozilált oligoszacharidokat tartalmazó (**TOS–MUP**) agar alkalmas a probiotikus *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 és *B. breve* M-16V törzsek élősejt-számának szelektív meghatározására tejsavbaktériumok jelenlétében.

3. A *Lactobacillus acidophilus* élősejt-számának szelektív meghatározása leghatékonyabban 45°C-on, 48 órán át, anaerob módon inkubált, 5,4-es pH-jú MRS agaron valósítható meg. A vonatkozó nemzetközi szabványban szereplő módszer [0,1 mg/l clindamycinnel és 10 mg/l ciprofloxacinnal kiegészített MRS agar (**MRS–CC agar**), 37°C-on 72 óráig **anaerob** körülmények között inkubálva (ISO és IDF, 2006)] csak abban az esetben alkalmas ugyanerre, ha a vizsgálandó termékben *Lb. casei* nincs jelen a *Lb. acidophilus*-szal azonos, vagy azt meghaladó koncentrációban.

Új tudományos eredmények II.

4. **ABT-típusú probiotikus savanyú tejtermékek** kultúra eredetű komponenseinek szelektív elkülönítését 37°C-on 72 óráig anaerob módon inkubált MRS–CC agaron, vagy 5,4-es pH-jú MRS agaron (*Lb. acidophilus*), 37°C-on 72 órán át anaerob módon inkubált TOS–MUP agaron (*Bifidobacterium* spp.), ill. 45°C-on, 24 órán keresztül aerob körülmények között inkubált M17 agaron (*Streptococcus thermophilus*) célszerű végezni.
5. **5% akácméz-kiegészítés** csökkenti ($P < 0,05$), sőt **megakadályozza a *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 pusztulását** tehéntej-, ill. tevetej-alapú probiotikus savanyú tejekben a termékek 4°C-on történő öthetes tárolása során.



Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet
Hungarian Dairy Research Institute
Ungarisches Milchforschungsinstitut

Köszönöm megtisztelő figyelmüket!

