

NYUGAT-MAGYARORSZÁGI EGYETEM  
MEZŐGAZDASÁG- ÉS ÉLELMISZER-TUDOMÁNYI KAR  
ÉLELMISZER-TUDOMÁNYI INTÉZET

Ujhelyi Imre Állattudományi Doktori Iskola

Doktori Iskola-vezető:

Dr. Benedek Pál DSc  
egyetemi tanár

Az állati eredetű termékek feldolgozása és minőségbiztosítása  
program

Programvezető:

Dr. habil. Szigeti Jenő CSc  
egyetemi tanár

Tudományos vezető:

Dr. habil. Varga László PhD  
egyetemi docens

**FUNKCIONÁLIS HATÁSÚ TEJTERMÉK ELŐÁLLÍTÁSA  
SPIRULINA (*ARTHROSPIRA PLATENSIS*)  
FELHASZNÁLÁSÁVAL**

Készítette:

**ÁSVÁNYI-MOLNÁR NOÉMI**

Mosonmagyaróvár

2009

**FUNKCIONÁLIS HATÁSÚ TEJTERMÉK ELŐÁLLÍTÁSA SPIRULINA  
(ARTHROSPIRA PLATENSIS) FELHASZNÁLÁSÁVAL**

Írta:  
ÁSVÁNYI-MOLNÁR NOÉMI

Készült a Nyugat-magyarországi Egyetem  
Mezőgazdaság- és Élelmiszer-tudományi Kar  
Ujhelyi Imre Állattudományi Doktori Iskola  
Az állati eredetű termékek feldolgozása és minőségbiztosítása programja keretében

Témavezető: Dr. habil. Varga László PhD

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

(aláírás)

A jelölt a doktori szigorlaton.....% -ot ért el,

Mosonmagyaróvár,.....

.....  
a Szigorlati Bizottság elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen /nem)

Első bíráló (Dr. Beczner Judit CSc) igen /nem

(aláírás)

Második bíráló (Dr. habil. Fenyvessy József CSc) igen /nem

(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján.....%-ot ért el

Mosonmagyaróvár,.....

.....  
a Bírálóbizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése.....

.....  
Az EDT elnöke

## TARTALOMJEGYZÉK

<b>KIVONAT</b>	<b>6</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>8</b>
<b>1. BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉS</b>	<b>10</b>
<b>2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS</b>	<b>13</b>
<b>2.1. A tejsavbaktériumok általános jellemzése</b>	<b>13</b>
2.1.1. A tejsavbaktériumok története és jelenlegi rendszertana	16
2.1.2. Tejsavbaktériumok antimikrobás anyagai	19
2.1.3. A tejsavbaktériumok szerepe a fermentált élelmiszerek előállításában	22
<b>2.2. A starterkultúrák funkciója</b>	<b>23</b>
2.2.1. A mezofil starterkultúrák jellemzése	25
2.2.2. A savanyú tejtermékek gyártásához használt fontosabb mezofil kultúrák	27
<b>2.3. Savanyú tejkészítményekre vonatkozó előírások.</b>	<b>29</b>
<b>2.4. A Spirulina jellemzése</b>	<b>30</b>
2.4.1. Mi a Spirulina?	30
2.4.2. A Spirulina szerepe az emberi táplálkozásban és egészségben	33
2.4.3. A Spirulina nagyüzemi és kereskedelmi előállítása	37
2.4.4. Termékbiztonság	40
<b>2.5. A tejsavbaktériumok savképzésének és szaporodási sebességének serkentése különböző kiegészítők felhasználásával</b>	<b>43</b>
2.5.1. Nem alga alapú kiegészítők használata	44
2.5.2. Alga alapú kiegészítők használata	46
2.5.3. A Spirulina aktív anyagainak antimikrobiális hatása élelmiszer-eredetű patogén és romlást okozó mikroorganizmusokra	47
<b>2.6. Funkcionális élelmiszerek definíciói</b>	<b>49</b>
<b>2.7. Új termékek fejlesztésének jelentősége</b>	<b>52</b>
<b>3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK</b>	<b>54</b>
<b>3.1. A Spirulina biomassa mikrobiótája</b>	<b>54</b>
3.1.1. A porított Spirulina biomassa	54
3.1.2. A mikrobiológia vizsgálat menete	55

---

<b>3.2. A mezofil tejsavbaktériumok savtermelésének és sejtszám-változásának nyomon követése</b>	<b>58</b>
3.2.1. A modell közeg bemutatása	58
3.2.2. A vizsgálatba bevont mezofil tejsavbaktérium törzsek ismertetése	59
3.2.3. Beoltás, inkubálás és pH-mérés	61
3.2.4. A kiválasztott Lactococcus-törzsek sejtszám-változásának nyomon követése	62
<b>3.3. A Spirulina biomassa antimikrobás hatásának vizsgálata</b>	<b>62</b>
3.3.1. A gátlási vizsgálatokba bevont tesztörzsek.	63
3.3.2. Az inokulum elkészítése	66
3.3.3. A lemezek elkészítése	66
3.3.4. A vizsgálatban alkalmazott Spirulina kivonatok	67
<b>3.4. Mezőfil tejsavbaktériumok és Spirulina biomassa felhasználásával készülő savanyú tejtermék kifejlesztése</b>	<b>68</b>
3.4.1. A termékfejlesztés menete	68
3.4.2. Az érzékszervi bírálat menete és kiértékelése	69
<b>3.5. Spirulina biomassa hatása a mezofil tejsavbaktériumokra a késztermék tárolása során</b>	<b>70</b>
3.5.1. Alapanyag és starterkultúra	70
3.5.2. Termékgyártás és -tárolás	71
3.5.3. Mikrobiológiai vizsgálatok	71
<b>3.6. A kiértékelésben alkalmazott matematikai-statisztikai módszerek.</b>	<b>72</b>
<b>4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK</b>	<b>73</b>
<b>4.1. A Spirulina biomassa mikrobiológiai állapota</b>	<b>73</b>
<b>4.2. A mezofil tejsavbaktériumok savtermelésének és sejtszám-változásának nyomon követése tej közegben</b>	<b>75</b>
4.2.1. Az optimális biomassa-koncentráció meghatározása	75
4.2.2. Hőkezelés hatása a Spirulina biomassára	76
4.2.3. Az vizsgált törzsek savtermelésére gyakorolt hatás	77
4.2.4. A kiválasztott Lactococcus törzsek sejtszámainak változása Spirulina biomassa-adagolás hatására	90
4.2.5. Kevert tenyészetben alkalmazott Lactococcus törzsek savtermelésének alakulása Spirulina biomassa-adagolás hatására	93
<b>4.3. A Spirulina biomassa antimikrobás hatása</b>	<b>97</b>

---

<i>4.4. Mezofil tejsavbaktériumok és Spirulina biomassza felhasználásával készülő funkcionális hatású savanyú tejtermék kifejlesztése</i>	<i>99</i>
<i>4.5. A Spirulina biomassza hatása az új típusú ízesített aludttej tárolhatóságára.</i>	<i>106</i>
<b>5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK</b>	<b>109</b>
<b>6. ÖSSZEFOGLALÁS</b>	<b>112</b>
<b>ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK</b>	<b>116</b>
<b>KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS</b>	<b>118</b>
<b>7. IRODALOMJEGYZÉK</b>	<b>119</b>
<b>MELLÉKLET</b>	<b>136</b>

## **FUNKCIONÁLIS HATÁSÚ TEJTERMÉK ELŐÁLLÍTÁSA SPIRULINA (*ARTHROSPIRA PLATENSIS*) FELHASZNÁLÁSÁVAL**

### **KIVONAT**

Napjaink megváltozott táplálkozási szokásai következtében a funkcionális élelmiszerek előállítása és forgalomba hozatala sokakat érintő és érdeklő terület. A dolgozat célja egy olyan, új típusú savanyú tejtermék előállítási technológiájának kidolgozása volt, amely a hagyományos tejjipari gyártmányoknál gazdagabb víz- és zsíroldható vitaminokban, mikroelemekben, esszenciális aminosavakban, telítetlen zsírsavakban és prebiotikus hatású komponensekben, vagyis funkcionális minőséggel rendelkezik.

A Spirulina biomassa mikrobiológiai állapotának ellenőrzése hagyományos tenyésztéses vizsgálattal történt. A mezofil tejsavbaktériumok savtermelésének és sejtszám-változásának nyomonkövetése pH méréssel, illetve élősejt-szám meghatározással valósult meg Spirulina kiegészítést tartalmazó és anélküli modell tápközegben (UHT-tejben). Agardiffúziós lyukteszttel ellenőriztem a Spirulina vizes kivonatainak antimikrobás hatását. Érzékszervi vizsgálatok segítségével kialakítottam a Spirulina felhasználásával készülő savanyú tejtermék receptúráját és gyártástechnológiai folyamatát, majd terméktárolási kísérlet keretében meghatároztam a Spirulina biomassa mezofil tejsavbaktériumokra kifejtett hatását.

Vizsgálataim eredményei alapján, a porított Spirulina biomassának mezofil szintenyészetekkel savanyított tejtermékek előállításához

---

funkcionális hatású adalékanyagként történő felhasználása több szempontból is javasolható. A hatékony és érzékszervi szempontból egyaránt elfogadható koncentráció meghatározásakor – melyet az 1-8 g/dm<sup>3</sup> koncentráció-tartományban végeztem el *Lactococcus (Lc.) lactis*-törzsek felhasználásával – a 3 g/dm<sup>3</sup>-nyi mennyiség bizonyult optimálisnak.

A 3 g/dm<sup>3</sup>-es mennyiségben alkalmazott *Spirulina* biomassza szignifikáns mértékben ( $P < 0,05$ ) növelte egyes mezofil tejsavbaktérium-törzsek (*Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128, *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetyllactis* NCAIM B.2127, *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257, *Lc. lactis* subsp. *cremoris* NCAIM B.2124, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* NCAIM B.2120) savtermelő aktivitását. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128, *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetyllactis* NCAIM B.2127 és *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257 esetében élősejtszám-meghatározás útján igazoltam a *Spirulina* szaporodás-serkentő hatását is.

A *Spirulina* biomassza vizes oldata gátolta a *Sarcina* sp., az *Acetobacter* sp., a *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373, a *Micrococcus luteus* T21, a *Proteus mirabilis* HNCMB 61370, a *Salmonella* Typhi-suis HNCMB 15016, a *Staphylococcus aureus* HNCMB 112002 és a *Staphylococcus epidermidis* HNCMB 110001 törzseinek szaporodását.

Kidolgoztam egy új típusú, *Spirulina*-val dúsított, funkcionális hatású aludttej-készítmény szabadalmaztatható gyártástechnológiai folyamatát. A termék 6 hetes, 4°C-on végzett tárolási kísérlete során a *Spirulina* biomassza a tárolás első 2 hetében szignifikáns mértékben ( $P < 0,05$ ) növelte a mezofil starterbaktériumok életképességét az aludttej-termékben.

**DEVELOPMENT OF A FUNCTIONAL DAIRY FOOD  
ENRICHED WITH SPIRULINA (*ARTHROSPIRA  
PLATENSIS*)**

**ABSTRACT**

The objective of the dissertation was to monitor the influence of a cyanobacterial (Spirulina) biomass on the growth, acid production and survival of various microorganisms. Because of its beneficial biological effects, Spirulina was used as a food additive to produce a functional fermented dairy product, for which a detailed manufacturing technology was developed. The influence of Spirulina on the sensory properties of fermented milks was determined, and storage experiments were carried out to study the changes in viability of the microbiota in the control and Spirulina-enriched products. The cyanobacterial biomass increased the vitamin content and improved the fatty acid and essential amino acid composition of cow's milk. The effective concentration of Spirulina resulting in good sensory properties was found to be 3 g/dm<sup>3</sup>.



---

“The microorganism is always right,  
your friend,  
a sensitive partner.  
Microorganisms can (will)  
do anything.  
Microorganisms are smarter,  
wiser,  
more energetic  
than chemists, engineers, etc.  
If you take care of your (microbial) friends,  
they will take care of your future (and you  
will live happily ever after).”  
(Perlman)

“Míg élsz, egyre tanulj, és soha abba ne hagyd!”  
(Seneca)

## 1. BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉS

A tejsavbaktériumok által végzett fermentáció során termelődő tejsav az élelmiszerben megfelelő mennyiségben felhalmozódva megakadályozza a további mikrobiális tevékenységet, és az alapanyaghoz képest biztonságosabb, hosszabb ideig eltartható terméket eredményez. A tejsavbaktériumok anyagcsere-termékei közül – a szerves savak mellett – mikrobagátló hatással rendelkeznek még bizonyos fehérje természetű antimikrobás anyagok (az ún. bakteriocinek) és a hidrogén-peroxid is. A tejsav – tartósító hatása mellett egyúttal – kellemes ízt és nagyobb élvezeti értéket ad az élelmiszernek.

Az erjesztéseket véghezvivő hasznos mikroorganizmusoknak a nyersanyagok kevert mikrobiótájában történő uralomra jutása többféle módon segíthető elő, például a környezeti tényezők számukra kedvező módosításával, vagy a hasznos mikroorganizmusok nagy számban történő mesterséges bevitelével. A kedvező környezeti tényezőket nemcsak az erjesztést jellemző fizikai paraméterek optimalizálásával valósíthatjuk meg, hanem különböző, erjesztést serkentő anyagok adagolásával is, amelyek segítik a folyamat termékeinek képződését és növelik a mikroorganizmusok szaporodási sebességét.

Ismeretes, hogy a tejsavbaktériumok gyorsabb savképzése a fermentált tejtermékek gyártási idejének rövidülését, ezáltal a termelékenység növekedését eredményezi, és megakadályozza a nemkívánatos mikrobióta elszaporodását, továbbá komoly szerepet tölt be a termék állományának, ízének kialakításában is. A tejsavbaktériumok savtermelése és szaporodási sebessége cianobaktérium (Spirulina) biomassza felhasználásával

serkenthető, így az állati eredetű élelmiszerek és mikrobiális alapanyagok kombinációjával új élelmiszeripari termék alakítható ki, amely emészthető nyersfehérjében gazdagodik, zsírsav-összetétele közelít az ideálishoz, vitamintartalma növekszik, vitamin-összetétele javul, és antikarcinogén komponenseinek száma is nő.

Dolgozatomban bemutatom a szaporodásukban serkenteni kívánt mezofil tejsavbaktériumokat, részletesen foglalkozom a tejsavas erjedést elősegítő anyagokkal, kiemelt figyelmet szentelve a cianobaktériumok ilyen irányú felhasználásának.

A termelékenység jelentős szempont a tejiparban is, ezért vizsgálataim során arra kerestem a választ, hogy a mezofil tejsavbaktérium színtenyészetek fermentációs aktivitása és fajlagos szaporodási sebessége serkenthető-e cianobaktérium biomassza adagolásával.

Célkitűzéseim a következők voltak:

1. A porított *Spirulina* biomassza mikrobiológia állapotának ellenőrzése.
2. A *Spirulina* biomassza *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* és *Leuconostoc mesenteroides* törzsek savtermelő képességére gyakorolt hatásának vizsgálata tej tápközegben.
  - a. A cianobaktérium biomassza optimális koncentrációjának meghatározása az érzékszervi tulajdonságok és a költségek figyelembe vételével.
  - b. Azoknak a törzseknek a kiválasztása, amelyeknek a savtermelése legjobban stimulálható *Spirulina* biomasszával.
  - c. A legjobb tejsavtermelő törzsek esetében élősejt-szám meghatározással nyomon követni a fermentáció alatti sejtszám-változást.

3. Spirulina-kivonatok mikroorganizmus-gátló/serkentő hatásának megállapítása agar diffúziós lyukteszttel.
4. A kiválasztott törzsek felhasználásával egy olyan új savanyú tejtermék gyártástechnológiájának kidolgozása, amely a hagyományos tejipari gyártmányoknál gazdagabb víz- és zsírolható vitaminokban, mikroelemekben, esszenciális aminosavakban, telítetlen zsírsavakban, prebiotikus hatású komponensekben, tehát funkcionális minőséggel rendelkezik.
5. Tárolási kísérlettel ellenőrizni a Spirulina biomassza hatását a tejsavbaktériumok termékbeli életképességének (túlélésének) alakulására.

## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 2.1. A tejsavbaktériumok általános jellemzése

Pontos definíció nem létezik a tejsavbaktérium (angolul: Lactic Acid Bacteria, LAB) kifejezésre, amely nem rendszertani kategória, hanem közös anyagcsere- és élettani sajátosságokkal rendelkező baktériumcsoportok gyűjtőneve. A tejsavbaktériumokhoz tartozó nemzetségeket az *Eubacteria* birodalmon belül, a Gram-pozitív baktériumok *Firmicutes* törzsében találjuk. Az ide tartozó baktériumok – az atipikus sejtfallal rendelkező csoportoktól eltekintve – mind Gram-pozitív módon festődnek és kis guanin+citozin (G+C) tartalommal rendelkeznek (a DNS G+C aránya 50 mol% alatti).

Említést kell tenni a számos hasonló tulajdonságuk miatt gyakorlati szempontból és hagyományosan is a tejsavbaktériumokkal együtt tárgyalt és probiotikus tulajdonságokkal rendelkező bifidobaktériumokról, amelyek filogenetikailag teljesen elkülönülnek: G+C tartalmuk 55-67 mol%, így egy másik törzsbe, az *Actinobacteria* törzsbe tartoznak (Wood és Holzapfel, 1995).

A *Firmicutes* törzs *Bacilli* osztályába és *Lactobacillales* rendjébe tartoznak a tejsavbaktériumok. Nem mozgó, nem spóraképző, kataláz-negatív, nitrátreduktáz-negatív, citokrómoxidáz-negatív, nem lélegző, aerotoleráns, igényes és savtűrő kokkuszok vagy pálcák. A szénhidrátok fermentációja során végtermékként tejsavat képeznek, nem folyósítják el a zselatint és nem termelnek indolt (Axelsson, 1998). A fenti általános jellemzés kivételeiként olyan fajok is előfordulnak a tejsavbaktériumok között, amelyek katalázt vagy citokrómokat képeznek hematin tartalmú

táptalajokban (hem forrás lehet például a vér), illetve hemet nem tartalmazó, katalázt, pszeudokatalázt termelő fajok is vannak (Holzapfel *et al.*, 2001).

A tejsavbaktériumok egyedüli energiatermelő módja a tejsavas erjedés, működőképes teljes citromsavkörük, hemhez kötött elektrontranszport rendszerük és citokrómjuk sincs. Energiájukat a szénhidrátok szubsztrát szintű foszforilációjával nyerik. Következésképpen egyrészt savtűrők (szaporodásuk optimális pH-ja 5,5 körül van, de elviselik a jóval kisebb, 3,0-3,5-es pH-t is), másrészt tápanyagigényük összetett, saját szintézis hiányában különböző aminosavakra, fehérjékre, zsírsav észterekre, sókra, nukleinsav származékokra és vitaminokra van szükségük a szaporodáshoz.

Komplex tápanyagigényük miatt elsősorban olyan élőhelyeken fordulnak elő, ahol nagy mennyiségű oldott szénhidrát, fehérjebomlási termékek és vitaminok vannak jelen, vagyis növényi (gyümölcs, zöldség, gabona) és állati (tej, hús) eredetű anyagokon, erjesztett vagy romlott élelmiszerekben, emberi és állati szervezetek tápcsatornájában stb. (Hammes és Vogel, 1995; Wood és Holzapfel, 1995; Wood és Warner, 2003). Mivel a tejsavbaktériumok sok fajának hosszú történeti kapcsolata van az élelmiszerekkel, ezért általánosan biztonságosnak (generally regarded as safe: GRAS) fogadjuk el őket (Limsowtin *et al.*, 2003).

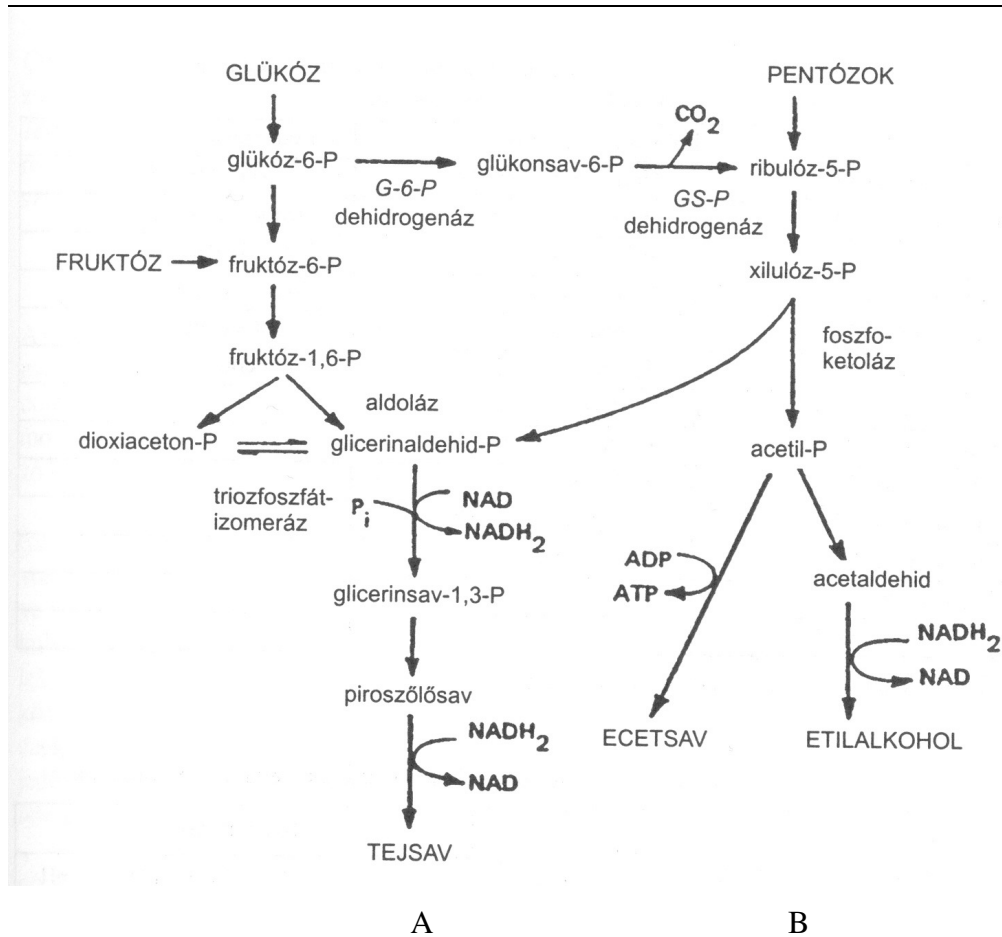
A tejsavbaktériumok a tej legáltalánosabb mikroorganizmusai. Hasznosak, amikor színtenyészetek (pl. vajkultúra, joghurtkultúra, sajt kultúra) alkotóiként tejterméket állítunk elő velük, károsak, ha elszaporodva megsavanyítják a nyers vagy pasztörözött tejet (Szakály, 2001); sőt a csoport tartalmaz patogén baktériumokat is, amelyek nem kívánatosak az élelmiszerben (pl. több sztreptokokkus, valamint a halpatogén karnobaktérium).

---

Az általuk végzett tejsavas erjedés két, lényegileg eltérő biokémiai úton is folyhat (**1. ábra**). A glükóz homofermentatív erjesztése a glikolízis szerint történik, a piroszőlősav közvetlenül tejsavvá redukálódik. A glikolízist folytató sejtekben működik a fruktóz-difoszfát aldoláz.

A heterofermentatív tejsavas erjedés első szakasza más, a pentóz-foszfát utat követi. A sejtekből hiányzik a glikolízis kulcsenzime, az aldoláz és a triózfoszfát-izomeráz, de működik a foszfoketoláz, ami a glükonsavból képződő pentózokat hasítja. A heterofermentatív erjedés ezért egyrészt mindig gázképződéssel jár, másrészt végtermékei vegyesek és a fajok szerint változóak, köztük tejsav, ecetsav, etanol különböző arányban keletkezhetnek (valamint kisebb mennyiségben hangyasav és glicerin). Adott mennyiségű cukorból általában fele annyi energiát tudnak előállítani, mint a homofermentatívok.

Bár a tejsavas erjedésnek alapvetően kétféle mechanizmusa van, a tejsavbaktériumok erjesztési típusa háromféle lehet: obligát homofermentálók (pl. *Lactococcus lactis*), obligát heterofermentálók (pl. *Leuconostoc mesenteroides*), valamint fakultatív heterofermentálók (pl. *Lactobacillus plantarum*). Utóbbiak a glükózból csak tejsavat képeznek, de erjesztik a glükonsavakat és a pentózokat is (Deák, 2006).



1. ábra: A homo- (A) és a heterofermentatív (B) tejsavas erjedés vázlatja (Deák, 2006)

2.1.1. A tejsavbaktériumok története és jelenlegi rendszertana

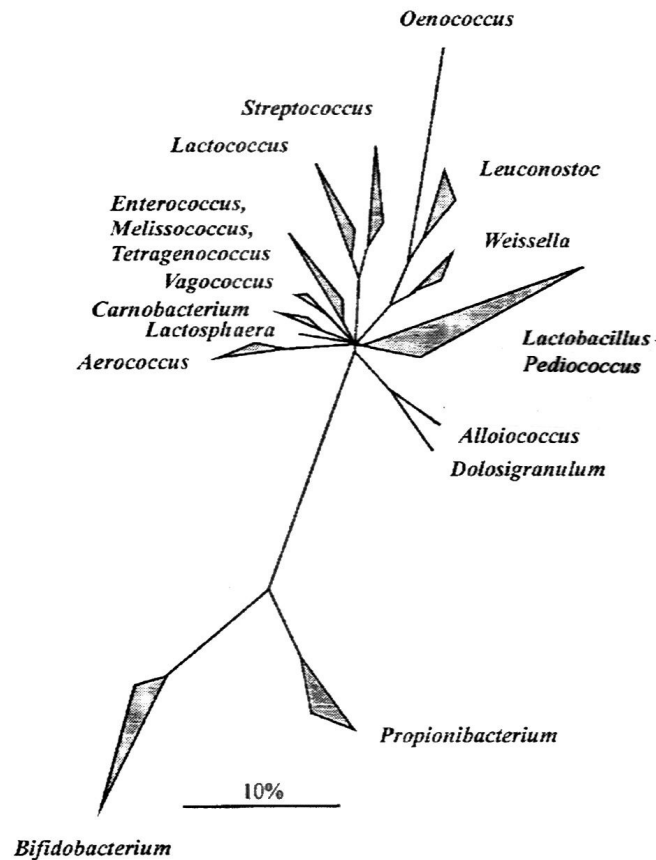
Joseph Lister 1873-ban számolt be először a tej savanyodásáért felelős mikroorganizmusok izolálásáról. A törzset *Bacterium lactis*-nak nevezte el, ezt később *Streptococcus lactis*-ra változtatták (Ward *et al.*, 2003). Komoly hatással volt a tejsavbaktériumok rendszerezésére Sigurd Orla-Jensen monográfiájának megjelenése 1919-ben. Az általa használt főbb klasszifikációs tulajdonságok: morfológia (kokkus vagy pálca), glükóz-



---

fermentáció módja (homo- vagy heterofementatív), szaporodás néhány "kardinális" hőmérsékleti értéken (pl. 10°C-on és 45°C-on) és a hasznosított cukrok fajtája. Ahogy e fejezet végén látható lesz, ezek a tulajdonságok még mindig nagyon fontosak a tejsavbaktériumok osztályozásában. Orla-Jensen munkájának köszönhetően az a nézet terjedt el, hogy a tejsavbaktériumok csoportjának magját a *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* és *Streptococcus* nemzetségek alkotják (Axelsson, 1998). Ezek a nemzetségek Lancefield 1933-ban javasolt szerológiai azonosítási rendszerében az N csoportba kerültek. Ez a szerológiai azonosítás elválasztotta őket az A, B, és C csoportba tartozó sztreptokokkuszoktól és a D csoportba tartozó enterokokkuszoktól (Ward *et al.*, 2003). Schleifer és Mitsuhashi (1985) a korábbi *Streptococcus* nemzetséget először három részre osztották: *Enterococcus*, *Lactococcus* és *Streptococcus sensu stricto*. Azóta a tejsavbaktériumok osztályozása többször is jelentősen megváltozott (Axelsson, 1998).

A jelenlegi molekuláris filogenetikai osztályozás nem mindenben egyezik a hagyományos rendszertani csoportosítással, és új nemzetségek létrehozásával járt, amelyekhez a továbbiakban új fajokat is leírtak. A tejsavbaktériumokhoz tartozó nemzetségek 16S rRNS szekvencián alapuló konszenzus fáját a **2. ábra** mutatja. A törzsfa szerint közeli rokon a *Carnobacterium*, az *Enterococcus*, a *Vagococcus*, az *Aerococcus*, a *Tetragenococcus*, a *Lactosphaera* és a *Melissococcus* nemzetség. Ugyancsak közeli rokonságban van a *Lactococcus* és a *Streptococcus* nemzetség, míg a *Lactobacillus* nemzetség filogenetikailag különálló ágat alkot. A *Lactobacillus* nemzetség genetikai heterogenitására utal, hogy a különböző fajok G+C tartalma nagyon széles, 32-53 mol% közötti tartományban helyezkedik el, míg általában, ha két faj között több mint 10 mol% a különbség, akkor már nem tartoznak ugyanabba a nemzetségbe (url<sup>1</sup>).



**2. ábra:** 16S rRNS szekvenciák összehasonlító elemzésén alapuló konszenzus fa; a vonal a filogenetikai távolságot jelöli (Holzapfel *et al.*, 2001; url<sup>1</sup>)

A molekuláris szempontok szerint alkotott nemzetségeket csak részben jellemzik olyan közös alaktani és élettani bélyegek, amelyeket a tejsavbaktériumok korábbi osztályozásánál figyelembe vettek. A baktérium-taxonómiában a morfológiai jegyek kulcsfontosságú szempontként történő figyelembe vétele megkérdőjelezhető (Woese, 1987), ennek ellenére még mindig szerepet játszik a tejsavbaktériumok általánosan elfogadott jellemzésében (**1. táblázat**).

**1. táblázat:** A tejsavbaktérium nemzetségekre jellemző alaki és élettani tulajdonságok (Collins *et al.*, 1993; Deák, 2006)

Nemzetség	Alak	CO <sub>2</sub> képzés <sup>b</sup>	Tejsav típus <sup>c</sup>	Szaporodás				
				10 °C	45 °C	6,5% NaCl	pH 4,4	pH 9,6
<i>Lactobacillus</i>	pálca	±	D, L, DL	±	±	±	±	-
<i>Carnobacterium</i>	pálca	-	L	+	-	±	-	-
<i>Enterococcus</i>	kokkusz	-	L	+	+	+	+	+
<i>Lactococcus</i>	kokkusz	-	L	+	-	-	±	-
<i>Vagococcus</i>	kokkusz	-	L	+	-	-	±	-
<i>Leuconostoc</i>	kokkusz	+	D	+	-	±	±	-
<i>Oenococcus</i>	kokkusz	+	D	+	-	±	±	-
<i>Pediococcus</i>	tetrád	-	L, DL	±	±	±	+	-
<i>Streptococcus</i>	lánc	-	L	-	±	-	-	-
<i>Tetragenococcus</i>	tetrád	-	L	+	-	+	-	+
<i>Weissella</i>	kokkusz/ pálca	+	D, DL	+	-	+	±	-

<sup>a</sup> +, pozitív; -, negatív; ±, különböző válasz a nemzetségbe tartozó fajok között.

<sup>b</sup> A glükóz homo- vagy heterofermentációjának vizsgálata; a negatív jel homofermentatív, a pozitív heterofermentatív tulajdonságot jelent.

<sup>c</sup> A glükózból képzett tejsav konfigurációja.

### 2.1.2. Tejsavbaktériumok antimikrobás anyagai

A tejsavbaktériumok antimikrobás hatását legtöbbször a szerves savak (Schillinger és Lücke, 1989) valamint a hidrogén-peroxid (Tagg *et al.*, 1976; Gilliland és Speck, 1977) termelésének tulajdonítják. Mások szerint a szaporodásgátlás a termelt bakteriocinnek köszönhető (Klaenhammer, 1988).

#### *A csökkent pH és a szerves savak*

A fermentáció során a tejsavbaktériumok az alapanyagban található szénhidrátokat (elsősorban a glükózt és a laktózt) anaerob módon tejsavvá bontják, ezáltal a termék pH-ját a savas tartományig csökkentik (pH < 4,5).

Ezt a savas közeget a tejsavbaktériumok többnyire jól tolerálják, néhány, romlást okozó és kórokozó baktérium viszont kevésbé viseli el. A savas kémhatás denaturáló hatással van a sejtfelszíni enzimekre, és a protonok citoplazmába való beáramlása miatt a sejt belső pH-ja is lecsökken, károsodásokat okozva a fehérjék és a DNS szerkezetében, a baktériumok anyagcsere folyamataiban.

A savas kémhatás mellett jelentős károsító hatásuk van a képződő gyenge savak (tejsav, ecetsav stb.) disszociálatlan molekuláinak is. Ezek a lipofil molekulák ugyanis könnyen átjutnak a plazmamembránon, és a citoplazmában disszociálnak. A sejtbe beszivárgó, valamint a disszociáció során felszabaduló protonok feldúsulnak a citoplazmában, és tönkreteszik a transzmembrán protongrádiens, ami szükséges a különböző transzportfolyamatokhoz, a mozgásképeséghez és az ATP bioszintéziséhez. A baktériumok protonpumpák és ioncserélő csatornák segítségével, illetve negatív töltésű ionok felvételével igyekeznek helyreállítani homeosztázisukat, azonban ezek ATP-t igénylő folyamatok, amelyek előbb-utóbb kimerítik a sejtek energiatartalékait (Booth és Kroll, 1989). Egyes szerves savak (pl. hangyasav, ecetsav) disszociációjakor nem csak a felszabaduló protonok okoznak gondot, hanem a képződő anionok is, amelyek gátolják a baktériumok anyagcseréjét (Corlett és Brown, 1980; Szekér, 2007).

### *Hidrogén-peroxid*

Oxigén jelenlétében a tejsavbaktériumok elektronokat visznek rá a molekulára, és ezáltal szuperoxid anion ( $O_2^-$ ), hidrogén-peroxid ( $H_2O_2$ ) vagy víz ( $H_2O$ ) keletkezik. A hidrogén-peroxid erős oxidálószer lévén képes

---

gátolni, illetve elpusztítani a romlást okozó és a patogén baktériumokat (Szekér, 2007).

### *Bakteriocinek*

A tejsavbaktériumok szerves savak termelése mellett fehérje természetű antimikrobás anyagok, ún. bakteriocinek termelésével is képesek gátolni más, elsősorban Gram-pozitív mikroorganizmusok szaporodását. Tagg és mtsai (1976) definíciója szerint a bakteriocinek fehérje jellegű vegyületek, amelyek közeli rokonságban levő baktériumokat képesek elpusztítani. Bár ez a meghatározás a bakteriocinek többségére igaz, ismertek olyanok is, amelyek rendszertanilag távolabbi baktériumcsoportok ellen is hatásosak, és a fehérjerész mellett lipid- illetve szénhidrát-komponenseket is tartalmaznak (Marugg, 1991; Barefoot és Nettles, 1993).

A számtalan felfedezett tejsavbaktérium bakteriocin közül a *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* által termelt nizin (E234) az egyedüli, amelynek élelmiszer-tartósítószerként való felhasználását a WHO engedélyezte. A nizin viszonylag széles hatásspektrummal rendelkező antimikrobás anyag, amely a Gram-pozitív baktériumok sokaságát gátolja (Delves-Broughton, 1990), úgymint néhány *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Listeria*, *Corynebacterium* fajt, valamint a *Mycobacterium tuberculosis*-t. A legnagyobb jelentősége abban rejlik, hogy a *Bacillus* és a *Clostridium* spórák kicsírázását is gátolja. Ez utóbbi tulajdonságát a tejipar hasznosítja oly' módon, hogy a nizint a sajtgyártás alapanyagához, a tejhez adagolja, meggátolva ezzel a sajtok *Clostridium*ok okozta késői puffadását.

Magyarországon elsőként Pulay (1954) számolt be a nizin tejipari alkalmazásának lehetőségéről, a sajtgyártás során előforduló vajsavas puffadást gátló hatását hangsúlyozva. Munkatársai segítségével számos üzemi kísérletet végzett nizzinnel, illetve nizin-termelő törzsekkel sajtok vajsavas puffadásának megakadályozására (Pulay *et al.*, 1956). Különösen jó eredményeket kaptak röglyukas félkemény sajtok (pl. Óvári sajt) esetében.

A nizin vegetatív sejtekkel szembeni antimikrobás hatása abban rejlik, hogy a citoplazma-membránba beépülve azon pórusokat hoz létre, amelyeken keresztül kiegyenlítődik a membránpotenciál kialakításában szerepet játszó ionok koncentrációja a membrán két oldalán, megszüntetve ezzel a protongrádienszt. A nizinmolekulák összekapcsolódva alakítják ki a membránt átívelő csatornákat. A nizin hatását segíti a közeg savas kémhatása, hiszen a jelentősebb proton koncentráció-különbség meggyorsítja a hidrogénionok kiegyenlítődést a membrán két oldalán. A kisebb pH emellett azért is fontos, mert savas környezetben megnő a nizin oldhatósága és stabilitása, lúgos közegben pedig inaktiválódik a molekula (Garcerá *et al.* 1993). A nizin nem jelent veszélyt az emberi szervezetre, mert a bélcsatorna emésztőenzimjei ( $\alpha$ -kimotripszin) gyorsan inaktiválják (Szekér, 2007).

### 2.1.3. *A tejsavbaktériumok szerepe a fermentált élelmiszerek előállításában*

A tejsavasán erjesztett élelmiszerek alapanyaga lehet tej, hús, zöldség vagy gabona, amelyekből a fermentáció körülményeinek szabályozásával változatos élelmiszerek készíthetők. Az így készült termék – a tejsavbaktériumok tevékenységének eredményeképpen – az alapanyaghoz képest változatosabb, biztonságosabb, jó minőségű, hosszabban eltartható, íz- és tápanyagokban gazdagabb lesz, ugyanakkor az esetlegesen jelenlevő

antinutritív anyagok mennyisége csökken. Ilyen élelmiszerek a fermentált tejtermékek (pl. joghurt, kefir, tejföl, vaj, sajtok), a fermentált húskészítmények (pl. szalámi- és kolbászfélék), az erjesztett zöldségfélék (pl. savanyú káposzta, uborka, olívbogyó, kávébab, kakaóbab) vagy a savanyú kovászos kenyér (Deák, 2006; Galántai, 2008).

Az erjesztés a kezdetekben spontán fermentációval történt, az alapanyagban lévő vagy a környezetből véletlenszerűen belekerülő baktériumok segítségével. Ezt a módszert alkalmazzák ma is a zöldségfélék tartósításánál. Később az előző erjesztésből megmaradt baktériumtömeg továbboltásával igyekeztek azonos minőségű terméket létrehozni. A mikroorganizmusok a folyamatos átoltással való fenntartás során alkalmazkodtak a különböző alapanyagokhoz, így ezekben jól és gyorsan el tudtak szaporodni. A baktériumok felfedezése és a mikrobiológiai módszerek fejlődése tette lehetővé a fermentációban részt vevő fajok megismerését, pontos jellemzését és ezeknek az ismereteknek a birtokában a starterkultúrák kifejlesztését.

A tejipar számára a tejsavbaktériumok közül a következő nemzetségek jelennek meg kultúraalkotóként: *Lactococcus* (*Lc.*), *Enterococcus* (*Ec.*) *Lactobacillus* (*Lb.*), *Leuconostoc* (*Ln.*), *Pediococcus* (*Pc.*) és *Streptococcus* (*Sc.*) (International Dairy Federation, 1996).

## 2.2. A starterkultúrák funkciója

Állandóan jó minőségű és biztonságos erjesztett tejtermékek előállításához jól jellemzett, genetikailag stabil törzseket, ún. szín- vagy indító-tenyészeteket, más néven starterkultúrákat használnak. Már az ipari szintű gyártási technológiák kifejlesztése előtt is jellemző gyakorlat volt,

hogy a tejet az előző erjesztési folyamatban keletkezett mikrobatömeggel oltották be, amelyet többnyire tejben igyekeztek fenntartani (Deák, 2006). A tiszta kultúrák használatának jelentősége kétirányú. Egyrészt lehetővé teszik a savanyításra, érlelésre szánt alapanyag pasztörözését, amely egészségügyi, élelmiszer-biztonsági szempontból nagy jelentőségű; másrészt a színtenyészet megválasztásával tudatosan beavatkozhatunk, pl. a sajtérlelés bonyolult folyamatába, de ugyanígy irányíthatjuk a savanyú tejtermékek, a vaj és egyéb tejtermékek ízének, aromájának alakulását is (Unger, 1981).

A starterkultúrák egy vagy több tejsavbaktériumot tartalmaznak meghatározott mennyiségben (Deák, 2006). Egyes termékek starterkultúrája nemcsak tejsavbaktériumokat, hanem élesztőket, illetve penészeket is tartalmazhat. Az indítótenyészetben lévő, genetikailag stabil törzseket olyan szelekciós kritériumok alapján választják ki, mint a gyors savanyító képesség, bakteriofág-rezisztencia, íz-anyagok képzése, bakteriocin-termelés képessége stb. (Champomier-Vergés *et al.*, 2002).

Az erjesztett tejtermékek gyártásának mikrobiológiailag legkritikusabb folyamata a kultúrákészítés. A tenyészetnek csak a startertörzseket szabad tartalmaznia, és fontos, hogy a tenyészet életerős legyen, azaz a baktériumok exponenciális szaporodási fázisban legyenek (Deák, 2006). A starterkultúrákat folyékony, fagyasztva szárított (liofilezett), koncentrált liofilezett és koncentrált mélyfagyasztott, liofilezett DVS (Direct Vat Set: Közvetlenül Alapanyagba Oltható) és mélyfagyasztott DVS formában hozzák kereskedelmi forgalomba. A kultúrákészítés a tartósított vagy laboratóriumban fenntartott friss tenyészetekből indul ki. A folyékony kultúra rendszerint a tejfeldolgozó üzemben készül, míg a többi az e tevékenységre specializálódott gyártó-laboratóriumokban. A hagyományos folyékony kultúra régebben volt általános, míg a többi korszerű változat



---

manapság válik egyre elterjedtebbé. A folyékony kultúrákat többszöri átoltás után, míg a DVS-kultúrákat átoltás nélkül lehet a termékgyártáshoz felhasználni (Szakály, 2001).

### 2.2.1. A mezofil starterkultúrák jellemzése

A tejipar a starterkultúrákat a kultúrát alkotó törzs(ek) optimális szaporodási hőmérséklet-igénye alapján mezofil és termofil csoportokba sorolja. A mezofil starterkultúrákat 18°C és 37°C közötti hőmérsékleten használják, míg a termofileket 30°C és 45°C között. A mezofil tejsavbaktériumok tipikus képviselői: *Lb. casei*, *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetyllactis*, *Ln. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, *Ln. mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Pc. pentosaceus* (International Dairy Federation, 1996). A homofermentatív tejsavas erjesztők csoportjába tartozik a *Lc. lactis* subsp. *lactis* és a *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, az aromatermelők közé pedig a *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetyllactis* és a *Leuconostoc* fajok.

A homofermentatív törzseket önmagukban (pl. *Lc. lactis* subsp. *cremoris*), vagy egymással kombinálva használhatjuk. A többféle fajta tartalmazó mezofil starterkultúrákat további alcsoportokba sorolják a kultúrát alkotó törzsek fermentációs típusai szerint:

- O típusúnak nevezzük, ha csak savtermelő tejsavbaktériumokat tartalmaz, azaz *Lc. lactis* subsp. *lactis* és/vagy *Lc. lactis* subsp. *cremoris* alkotja.
- L (vagy B) típusú, ha az egyetlen aromatermelő törzs a *Leuconostoc* nemzetségből kerül ki.

- D típusú, ha az aromatermelő tejsavbaktérium *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*.
- LD (vagy BD) típusú, ha a fent említett, mindkét aromaképző jelen van egy kultúrában és a *Lc. lactis* subsp. *diacetylactis* tartalom 0,6-13%-a, míg a *Ln. mesenteroides* subsp. *cremoris* 0,3-5,9%-a az összcsíraszámnak. Az aromaképzők arányát a szaporodást befolyásoló tényezőkkel szabályozhatjuk (Bylund, 1995).

Néhány *Lc. lactis* subsp. *diacetylactis* olyan erőteljes savképző, hogy egyedül is betöltheti a savanyító kultúra szerepét, de leggyakrabban *Lc. lactis* subsp. *lactis* és/vagy *Lc. lactis* subsp. *cremoris* baktériumokkal együtt alkalmazzák. Ellenben a *Ln. mesenteroides* subsp. *cremoris* nem használható tiszta kultúráként, hiszen e mikroba szaporodásának feltétele a *Lc. lactis* subsp. *lactis* vagy a *Lc. lactis* subsp. *cremoris* által termelt tápanyagok elérhetősége; hiányuk esetén nagyon lassan szaporodik tejben, és aromaanyagokat sem tud képezni.

A baktériumok tulajdonságai közül az optimális szaporodási hőmérséklet és a sótűrő-képesség játszik meghatározó szerepet a kultúra összetételében. A felhasznált törzsek kiválasztásakor az a cél, hogy azok mutualizmusban elérjék a kívánt eredményt, és ne versengjenek egymással. (Bylund, 1995). Sokféle kombinációban léteznek az egy, vagy többféle tejsavbaktérium-törzset tartalmazó starterkultúrák. A tejiparban használatos különböző starterek lehetnek kevert kultúrák, amelyeknél a keverék összetétele nincs pontosan meghatározva, vagy a kultúrák pontosan meghatározott törzs(ek)ből állnak (Mäyrä-Mäkinen és Bigret, 1998). Összetett mezofil szintenyészetek szelektív sejtszám-meghatározására az aroma- és savtermelő nemzetségek elkülönítésére alkalmas X-Gal Kalcium-Citrát Agart használják legelterjedtebben (Friedrich és Lenke, 2006).

### 2.2.2. A savanyú tejtermékek gyártásához használt fontosabb mezofil kultúrák

A mezofil kultúrák felhasználásával készülő savanyú tejtermékek közös jellemzője, hogy a megfelelően előkészített és hőkezelt, a **2. táblázat**ban felsorolt mikrobatenyészetek hozzáadásával savanyítás és alvasztás útján készülnek. 10%-nál kisebb zsírtartalom esetén savanyú tejről, legalább 10% zsírtartalom esetén savanyú tejszínekről beszélünk. Megjegyzendő, hogy hazánkban az aludttej sem ízesített, sem natúr változatban nem terjedt el, habár a háztartásokban spontán alvasztott aludttej történelmi múltja ezeréves. Az aludttejet alvasztó mezofil tejsavbaktériumok 18°C és 30°C között szaporodnak optimálisan. A mezofil tejsavbaktériumok lassan savanyítanak, és kevesebb savat termelnek, mint a termofilek (Szakály, 1999). Tejben történő szaporodásuk közben a mezofil tejsavbaktériumok fő szerepe a tejsav-előállítás, de hozzájárulnak a savanyú tejtermékek íz-anyagainak és állományának kialakításához is, továbbá megakadályozzák a nemkívánatos (romlást okozó) baktériumok szaporodását (Ward *et al.*, 2003).

A főbb savanyú tejtermékek mezofil színtenyészeit és azok néhány tulajdonságát a **2. táblázat** szemlélteti.

2. táblázat: A savanyított tejtermékek gyártásához használt fontosabb mezofil kultúrák (Unger, 1981; Szakály, 2001)

Termék	Mikroorganizmus	Megjegyzés
Aludttej, tejföl- és túró- félesek, savanyú író, vaj, friss sajtok	V ajkultúra: <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> var. <i>diacetylactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranucum</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>Leuconostoc citrovorum</i>	Nevét orman kapta, hogy eredetileg (az 1900-as évek elején) a vaj gyártásához használták. Jelenleg savanyú tejtermékek, vaj, túró és túrókészítmények, friss-, lágy- és félkemény-sajtok előállításához alkalmazzák. 25-30°C szaporodási optimum. Közepes mennyiségű tejsav- és fokozott íz-, ill. aroma- (acetoin, diacetyl)-termelés jellemző az <i>Lc.</i> -ra, a <i>Ln.</i> -ra pedig főleg az aromatermelés.
Kefir	Kefirkultúra: <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. caucasicus</i> , <i>Torula kefir</i> , <i>Saccharomyces fragilis</i> és más alkoholképző élesztők	18-22°C hőmérséklettel irányítható a mikrobakomponensek mennyisége és aránya, ennek következtében anyagcsere-termékek a tejsav és az alkohol. Tartalmaz még laktózerjesztő élesztőket ( <i>Kluyveromyces marxianus</i> ) és laktózi nem erjesztő élesztőket ( <i>Saccharomyces omnisporus</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Saccharomyces exiguus</i> ).
Kumis	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Saccharomyces lactis</i>	
Acidofilus- élesztős tej	Laktózerjesztő élesztők ( <i>Kluyveromyces marxianus</i> ) <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Saccharomyces lactis</i>	
Acidofilin	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> kefirkultúra	
Nyúlós tej és tejföl	V ajkultúra <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> var. <i>longi</i> <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> var. <i>taeffe</i>	
Lappföldi aludttej	laktózerjesztő élesztők, penészek	

### 2.3. Savanyú tejkészítményekre vonatkozó előírások

Az előflórás savanyú tejkészítmények (magyar élelmiszerkönyvi azonosító szám: MÉ 2-51/03/11) olyan termékek, amelyeket megfelelően előkészített és hőkezelt (külön engedély alapján esetleg nyers) tejből, speciális mikrobatenyészetek hozzáadásával, savanyítás (pH-csökkentés) és alvasztás útján állítottak elő; és a termékek a minőség-megőrzési időtartamuk lejáratáig legalább az előírt mennyiségben tartalmazzák a kultúrából származó élő, aktív mikroorganizmusokat (**3. táblázat**). Az élő tejsavbaktériumokat tartalmazó termékek hűtve tárolás mellett is csak aránylag rövid minőség-megőrzési idővel (3-4 hét) rendelkeznek, mert az utósavanyodás, a kontaminációból eredő mikrobiológiai romlás és a fehérje-, vagy zsírbomlás íz- és illatváltozást okoz a termékekben.

**3. táblázat:** Savanyú tejkészítményekre vonatkozó speciális kémiai és mikrobiológiai előírások (Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, 2004)

Jellemző	Savanyú tejek a kefir kivételével	Kefir	Probiotikus tejtermékek
Tejfehérje-tartalom, legalább, % (m/m)	2,8	2,8	2,8
Tejfehérje-tartalom a zsírmentes szárazanyagban, legalább, % (m/m)	34,0	34,0	34,0
Tejsavtartalom a vízfázisban, legalább, % (m/m)	0,6	0,6	0,6
Kultúrából származó tejsavbaktériumok száma, legalább, élőcsíra/g	$10^7$	$10^7$	$10^7$
Kultúrából származó élesztők száma, legalább, élőcsíra/g	-	$10^4$	-
Probiotikus mikrobák száma, legalább, élőcsíra/g	-	-	$10^6$

## 2.4. A *Spirulina* jellemzése

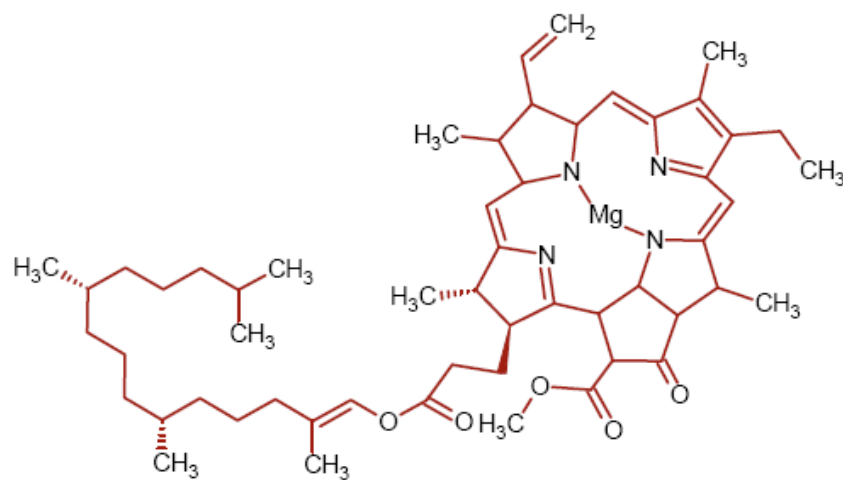
### 2.4.1. Mi a *Spirulina*?

A kereskedelmi forgalomban kapható *Spirulina* az *Arthrospira* (A.) *platensis* cianobaktérium faj szárított biomasszája. Az *A. platensis*-t a szakirodalomban is sok esetben a *Spirulina* (S.) *platensis* szinonímájaként használják (Hu, 2004; url<sup>2</sup>). A 16S rRNS gén szekvenálása nyomán megbizonyosodtak arról, hogy a korábban *Spirulina* nemzetséghez sorolt törzsek inkább az *Arthrospira* nemzetség tagjaihoz állnak közel (Nelissen *et al.*, 1992). Hangsúlyozni kell, hogy a kereskedelemben ragaszkodnak a *Spirulina* név további használatához, hiszen jelentős pénzüsségeket fordítottak ezidáig az *A. platensis* marketingjére *Spirulina* védett márkanev alatt. A nem egységes névhasználat miatt a dolgozatban zömében az ismertebb *Spirulina* szinonímát alkalmazom, annak tudatában, hogy a termesztett és *Spirulina* néven forgalmazott ehető törzsek az *Arthrospira* nemzetséghez tartoznak.

A témában kiadott legszakavatottabb könyv, a Boone és Castenholz (2001) által szerkesztett Bergey's Manual of Systematic Bacteriology szerint az *A. platensis* rendszertanilag az *Oscillatoriales* rendhez, a régebben kékalgaként is ismert cianobaktérium (*Cyanobacteria*) filogenetikai vonalhoz (törzs, phylum) tartozik, amelyet a valódi baktériumok birodalmába (*Eubacteria* regnum) sorolunk.

A morfológiailag heterogén, fotoautotróf cianobaktériumokat eltérő fotoszintetikus színanyaguk és oxigéntermelő képességük különbözteti meg a fényenergiát hasznosító baktérium nemzetségektől (Ördög, 1998). A

cianobaktériumok klorofill-*a* pigmentet (**3. ábra**) tartalmaznak a fotoszintetizáló baktériumok bakterio-klorofilljével szemben (Kiss, 1998), így tudták a földtörténet folyamán elsőként megvalósítani az oxigéntermeléssel járó fotoszintézist, döntő befolyást gyakorolva ezzel a földi élet fejlődésére. A cianobaktériumok a becslések szerint minegy 3,5 milliárd évvel ezelőtt alakultak ki. Hosszú időre visszatekintő létük ellenére a fosszilis cianobaktériumok és a jelenlegi fajok között nagy a morfológiai hasonlóság. Ez a tény lassú evolúciós fejlődésükre utal (Castenholz, 1992). A mintegy 2000 ismert cianobaktérium fajból kb. 300 fordul elő hazánkban.



**3. ábra:** Az *Arthrospira platensis*-ben található klorofill-*a* szerkezete (Mendiola, 2008)

A táplálkozásban betöltött szerepük miatt, a trópusi és szubtrópusi területeken élő, lúgos, brack és sós vizeket kedvelő *A. platensis* és *A. maxima* a legismertebb fajok. Az általuk preferált lúgos közeg pH-ja néha eléri a 11-es értéket is, megakadályozva ezzel más, e feltételeket nem kedvelő baktériumok és algák szaporodását a környezetükben (Belay, 2008).

Az *Arthrospira* nemzetséghez tartozó különböző fajok közül az *A. platensis* a legelterjedtebb, főleg Afrikában és Ázsiában fordul elő. Nagymértékű morfológiai elaszticitás jellemzi különböző szaporodási és stressz feltételek között. A természetben vagy laboratóriumi körülmények között fenntartva az *Arthrospira* változó méretű, nyitott balmenetes, helikális és soksejtes trichomát képez (4. ábra).



(A)



(B)

**4. ábra:** A Spirulina tenyészetének (A) és a porított Spirulina biomasszájának (B) fénymikroszkópos képe (url<sup>4</sup>)



---

A feltekeredettség mértéke azonban változatos lehet: a szorosan felcsavart alaktól a szinte egyenes, letekeredett formáig terjed, és egy tenyészetben belül több forma megjelenése is megfigyelhető (Wang és Zhao, 2005). A morfológiai változást számos környezeti tényező is előidézhetheti, mint pl. az oxigén és szén-dioxid szint, a tápanyag elérhetősége és a fény; másodsorban pedig a sejt alak-meghatározási folyamatában bekövetkező változás, amit Hongsthong és mtsai (2007) igazoltak az eltérő morfológiájú kultúrák által termelt fehérjék különbözőségével. Az *Arthrospira* fajok trichomáiban fénymikroszkóp alatt pontosan kivehető, átlós sejtfalak láthatók. A filamentumok egyedül állnak és kettéosztódással szaporodnak. A trichoma sejtjeinek szélessége nagyobb, mint a hosszúsága, mintegy 3-12 µm-es, sőt esetenként eléri a 16 µm-t is (Vonshak, 1997). Az *Arthrospira* fajok aránylag kis genommérettel (kb. 5,4 Mbp) jellemezhetőek (url<sup>3</sup>).

#### 2.4.2. A *Spirulina* szerepe az emberi táplálkozásban és egészségben

A Csád tó környéki afrikai és a Texcoco tó mellett élő mexikói őslakosok évszázadokon keresztül gyűjtötték élelmezési célzattal a *Spirulina* biomasszát (Vonshak, 1997). A *Spirulina* figyelmet érdemel egysejtfehérje (SCP) forrásként betöltött szerepe (Chen and Zhang, 1997; Anupama, 2000) és táplálék-kiegészítő tulajdonsága miatt is. A *Spirulina*, mint az *A. platensis* szárított biomasszája 2003. október 6.-án felkerült az USA élelmiszer- és gyógyszerügyi hatósága, az FDA (Food and Drug Administration) által vezetett GRAS-listára. Élelmiszer-összetevőként történő felhasználása biztonságosnak tekinthető, ha egy termékben adagonként 0,5-3,0 g-nyi mennyiségben található meg. A napi ajánlott mennyiség 3 g és 6 g között van, de egyes esetekben havi 3-12 g is elegendő (url<sup>5</sup>).

Több publikáció humán vonatkozásban értékeli a *Spirulina* összetételének jótékony hatását (Fox, 1986; Richmond, 1988; Doumenge és Durand-Chastel, 1993; Henrikson, 1994; [url<sup>5</sup>](#)). Újabban széles körben tanulmányozzák bioaktív komponenseinek köszönhető gyógyhatása miatt is (Belay *et al.*, 1993, Morist *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2003). Számos kutatás igazolta, hogy a *Spirulina* biomassza vagy annak kivonatai antioxidáns tulajdonságokkal rendelkeznek (Cohen és Vonshak; 1991; Mahajan és Kamat, 1995; Miranda *et al.*, 1998; Romay *et al.*, 1998; Bhat és Madyastha, 2000; Madhava *et al.*, 2000; Estrada *et al.*, 2001). Wang és mtsai (2007) vizsgálati eredményei szerint a linolsav peroxidáció gátlási teszt során a szuperkritikus széndioxid extrakcióval készült *Spirulina* kivonat antioxidáns hatása szignifikánsan jobb volt 200 és 300 perc után, majd 400 perc elteltével hasonlóná vált, mint az  $\alpha$ -tokoferolé. Antioxidáns hatásának köszönhetően, a *Spirulina* hozzájárulhat a rák kialakulásának megelőzéséhez, ill. késleltetéséhez (Khan *et al.*, 2005; Santoyo *et al.*, 2006) és emberben, illetve állatokban aktív hatást fejt ki néhány burkos vírussal szemben, mint pl. a herpesz simplex, a citomegalo, az influenza és a HIV-1 (Ayehunie *et al.*, 1998; Mishima *et al.*, 1998; Hernández-Corona *et al.*, 2002; Khan *et al.*, 2005; Singh *et al.*, 2005; Kwei *et al.*, 2008). A legújabb kutatási eredmények a *Spirulina* immunerősítő hatásáról tanúskodnak (Hirahashi *et al.*, 2002; Subhashini *et al.*, 2004), ugyanis fokozza a makrofágok fagocitáló képességét, serkenti az antitestek és a citokinek termelését (Blinkova *et al.*, 2001), növeli az NK sejtek akkumulációját és aktiválja, mobilizálja a T- és B-sejteket (Khan *et al.*, 2005). Véd a szénanátha ellen (Mao *et al.*, 2005), szabályozó szerepe van a lipid- és szénhidrát-anyagcserében, továbbá hozzájárul a bélbiótát alkotó tejsavbaktériumok és bifidobaktériumok megőrzéséhez (Khan *et al.*, 2005).

---

Lu és mtsai (2006) kimutatták a Spirulina jótékony hatását testmozgás okozta oxidatív stressz folytán bekövetkező vázizom sérülés megelőzésében. Ezzel ellentétben, Mazokopakis és mtsai (2008) egy 28 éves fiatalembernél akut harántcsíkt izom-sérülést diagnosztizáltak, ismereteik szerint a rendszeres Spirulina fogyasztás következtében. A vizsgálatok során nem leltek rá a fogékonyságot okozó tényezőre. A fiatalember tünetei 4 nap hidratálás után teljesen megszűntek. Humán vonatkozásban rendszeres fogyasztása mellékhatásaként fejfájást, izomfájdalmat, arcpírt, izzadást, zavart koncentrációt jegyeztek fel. Iwasa és mtsai (2002) bőrpírról és májkárosodásról számoltak be, ellenben Khan és mtsai (2005) szerint a Spirulina csökkenti a májra és a vesére ható anyagok toxikusságát.

A szakirodalomban fellelhető, egymásnak ellentmondó beszámolók, továbbá a Spirulina bizonyított tápláló és gyógyító hatása miatt további kutatások szükségesek a gyógyításra és élelmiszer-kiegészítőként alkalmazott Spirulina biztonságos, javasolható adagjának meghatározására.

Patkányokkal, sertésekkel, egerekkel és nyulakkal végzett etetési kísérletek során nem tapasztaltak semmiféle káros mellékhatást. Naidu és mtsai (1999) külön vizsgálták a Spirulina kék színanyagának (fikocianin) biztonságosságát természetes élelmiszer-színezékként történő felhasználás szempontjából. Albínó patkányokkal elvégzett kísérletekben a fikocianin nem gyakorolt káros hatást a vizsgált szervezetre.

A Spirulina felhasználási területe rendkívül széles. Hagyományosan humán táplálék- és állati takarmány-kiegészítőként alkalmazták (Vonshak, 1997), újabban pedig klinikai diagnosztikai, valamint biológiai kutatási célokra is felhasználják, de a kozmetikai ipar is hasznosítja különféle finomvegyszerek előállítására.

A megtermelt biomassza döntő mennyisége emberi fogyasztás célját szolgálja, jellemzően egészségmegőrző élelmiszerként (health food) értékesül. A Spirulina biomasszát por, tablettá, vagy kapszula formájában hozzák forgalomba. A termék nedvességtartalma 3-6%. A Spirulina biomasszában található értékes összetevőket a **4. táblázat** foglalja össze.

**4. táblázat:** A szárított Spirulina biomassza átlagos összetétele (Cserhádi és Forgács, 2001\*; Belay, 2008)

Összetevők	100 g-ban	Összetevők	100 g-ban
Összes zsír	4,30 g	Vitaminok	
SFA	1,95 g	K-vitamin	1,09 mg
PUFA	1,93 g	B <sub>1</sub> -vitamin	0,5 mg
MUFA	0,20 g	B <sub>2</sub> -vitamin	4,53 mg
Koleszterin	<0,10 g	B <sub>3</sub> -vitamin	14,9 mg
Szénhidrát	17,80 g	B <sub>6</sub> -vitamin	0,96 mg
Étkezési rost	7,70 g	B <sub>12</sub> -vitamin	162 mg
Cukor	1,30 g	Ásványi anyagok	
Laktóz	<0,1 g	Kalcium	468 mg
Fehérje	63 g	Vas	87,4 mg
Esszenciális aminosavak		Foszfor	961 mg
Hisztidin	1000 mg	Jód	142 mg
Izoleucin	3500 mg	Magnézium	319 mg
Leucin	5380 mg	Cink	1,45 mg
Lizin	2960 mg	Szelén	25,5 mg
Metionin	1170 mg	Réz	0,47 mg
Fenilalanin	2750 mg	Mangán	3,26 mg
Treonin	2860 mg	Króm	<400 mg
Triptofán	1090 mg	Kálium	1660 mg
Valin	3940 mg	Nátrium	641 mg
Nem esszenciális aminosavak		Egyéb összetevők	
Alanin	4590 mg	Fikocianin	17,2%
Arginin	4310 mg	Klorofill	1,2%
Aszparaginsav	5990 mg	Szuperoxid-dizmutáz	531.000 NE
Cisztin	590 mg	γ-linolénsav	1080 mg
Glutaminsav	9130 mg	Összes karotinoidok	504 mg
Glicin	3130 mg	β-karotin*	228 ± 7 mg/dm <sup>3</sup>
Prolin	2380 mg	Zeaxantin	101 mg
Szerin	2760 mg	β-kriptoxantin*	10,5 ± 0,3 mg/dm <sup>3</sup>
Tirozin	2500 mg		

NE: nemzetközi egység

---

Átlagosan 53-63% fehérjét, 4-6% lipidet, 17-25% szénhidrátot, 8-13% hamut, 8-10% rostanyagot, 1-1,5% klorofill-*a* pigmentet és számos vitaminfajtát tartalmaz (url<sup>5</sup>). Zsírsav-összetétele nagyon kedvező, bár jelentős mértékben függ a környezeti feltételektől. Átlagosan mintegy 27-28% telített és 72-73% telítetlen zsírsavat tartalmaz. A zsírsav-frakció 10-30%-a  $\gamma$ -linolénsav, amely egy viszonylag ritkán előforduló, többszörösen telítetlen, egészségvédő hatással rendelkező zsírsavféleség. Kiváló Spirulina törzsek felhasználása és megfelelő feldolgozási technológia alkalmazása esetén a biomasszának legalább 1%-át  $\gamma$ -linolénsav teszi ki (Belay, 1997; Cohen, 1997; Vonshak, 1997).

Tökéletes fehérjeforrás, mert sok esszenciális aminosavat tartalmaz, bár metionin-, cisztein- és lizintartalma kisebb a húsban, tojásban és tejben található ugyanezen aminosav-féleségek mennyiségéhez képest (Ciferri, 1983; Khan *et al.*, 2005). Ami vitamintartalmát illeti, a Spirulina a  $\beta$ -karotin leggazdagabb természetes forrása, 25-ször több  $\beta$ -karotin van benne, mint a sárgarépában. Emellett még D-, K- és B<sub>12</sub>-vitaminból tartalmaz számottevő mennyiséget. Sok benne az ásványi anyag is (vas, mangán, magnézium), mégpedig szerves kötésben, vagyis könnyen felszívódó formában. Nemcsak ásványi anyagokat, de egyes nyomelemeket (cink, szelén, jód) is képes felhalmozni sejtjeiben (Varga *et al.*, 2005). Több kalciumot tartalmaz, mint a tej (Fox, 1986). A sejtfal anyaga murein, amely biztosítja jó emészthetőségét.

#### 2.4.3. A Spirulina nagyüzemi és kereskedelmi előállítása

Az utóbbi 40 évben a világ számos országában kezdtek el kereskedelmi célból Spirulinát termesztetni (Borowitzka, 1999). Az egyre növekvő kereslet miatt a termesztés volumene az elmúlt időszakban

világszerte számottevően emelkedett. Az éves Spirulina biomassza-termesztés 2006-ban mintegy 3000 t-ra volt becsülhető (Pulz, 2008). A Spirulina nagyüzemi termesztésének módszerét az 1950-es években fejlesztették ki, és azóta széles körben használják az **5. ábrán** látható nyitott rendszerű, szabadtéri medencéket.



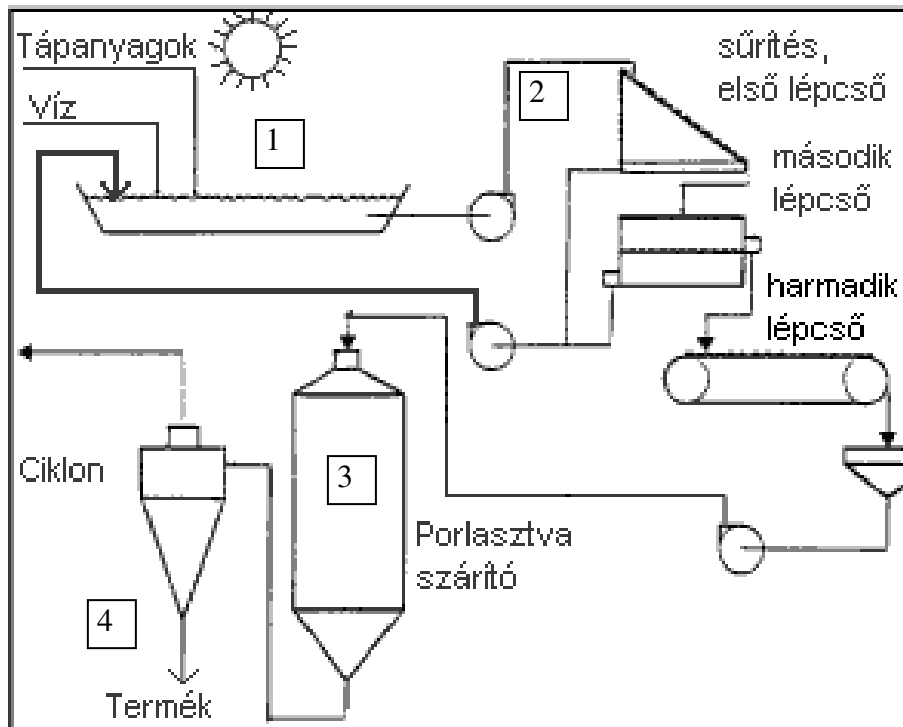
**5. ábra:** Spirulina nagyüzemi előállítására használt szabadtéri medencék az Earthrise Farmon (Calipatria, California) ([url<sup>6</sup>](#))

Termesztése – bőséges tápanyag- és fényigénye, valamint viszonylag nagy szaporodási hőmérséklete (optimuma: 35-38°C) miatt – a trópusi és szubtrópusi területeken kifizetődő, ahol a napsütéses órák száma, a napfény intenzitása elegendő, és a hőmérséklet is optimális az egész éven át tartó szaporításhoz.

A Spirulina szaporodásához szükséges másik tényező a csapadék. Azokon a területeken, ahol a termesztés egész éven át biztosítható lenne, csak időszakosan van csapadék, ez a tény hátrányosan befolyásolhatja a tenyészet

állapotát. Az időjárás viszontagságait természetesen ellensúlyozni lehet a medencék és a tenyésztés paramétereinek változtatásával.

A sivatagi klíma megfelelő időjárási feltételeket biztosít, ami nagyobb termésátlagokban és a termék stabil minőségében nyilvánul meg, ellenben a jelentős mértékű párolgás következtében nagy mennyiségű friss víz utánpótlást kell alkalmazni a medencékben (Belay, 2008).



**6. ábra:** A Spirulina-előállítás folyamata nagyüzemi körülmények között (1. tenyésztés, 2. betakarítás, 3. szárítás, 4. csomagolás)

A Spirulina kereskedelmi célú termelése négy szakaszból áll (6. ábra). A sekély, vászonnal megerősített polipropilén nyonnal bélelt mesterséges tavakban folyó tenyésztés során a tápközeget újra feldolgozzák, egy szezonon belül állandóan újrahasznosítják a táplevest. Az egyetlen

veszteség a párolgásból adódik. Félfolyamatos, “gyűrűs” termesztési rendszert alkalmazva minden medence tartalmát olyan mértékben takarítják be, amennyire túlnötte magát az utolsó 24 órában. A tápközeget ugyanabba a medencébe juttatják vissza, ahonnan kiemelték, hogy optimalizálják a növekedést és egy esetleges hiba esetén nyomon-követhetőek legyenek a gyártott tételek. A napi szüretet követően visszapótolják a betakarított biomassza által kivont tápanyagot. A tenyészetet PVC csöveken keresztül, szivattyúk segítségével a feldolgozó épületbe szállítják, ahol először rozsdamentes rácsokon öblítik és koncentrálnak a biomasszát. A képződött iszapot vákuumszárítóban paszta állagúvá dehidratálják. A pasztát porlasztva szárítóba szivattyúzzák a nedvességtartalom további csökkentése érdekében, amely után légszáraz, finom port kapnak, ami Spirulina néven ismert.

Az egész folyamat – a medencétől a por alak eléréséig – kevesebb, mint 15 percig tart. A port steril, oxigénmentes, vákuumzáras zacskókba csomagolják, címkézik, majd a minőségvizsgáló laboratóriumba szállítják, ahol a tétel mintáit mikrobiológiai és analitikai vizsgálatoknak vetik alá. Ilyen csomagolási körülmények között 4 év alatt is csak kis mértékben változik meg a termék biokémiai összetétele és tápértéke (Belay, 2008).

#### 2.4.4. Termékbiztonság

##### *Mikrobiológiai kontamináció*

A Spirulina nyílt medencés termesztésének egyik lehetséges problémája a tápközeg patogén mikroorganizmusokkal történő fertőzöttsége, de a termék a feldolgozás során is fertőződhet. A végterméknek az **5. táblázatban** felsorolt, különböző nemzeti és nemzetközi szervezetek által



előírt mikrobiológiai határértékeknek kell megfelelnie. Az aerob mezofil összcsíraszámot és a kóliform számot higiéniai indikátorként alkalmazza az USA élelmiszer- és gyógyszerügyi hatósága (FDA, 1998).

**5. táblázat:** Különbféle szervezeteknek a Spirulina biomassza mikrobiológiai-higiéniai minőségére vonatkozóan előírt követelményei

Szervezet	Összcsíra (CFU/g)*	Élesztő és penész (CFU/g)	Kóliform (CFU/g)	Fekál koliform	<i>Salmonella</i>
AHPA <sup>a</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	n.a.	0/10 g
EU <sup>b</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	n.a.	n.a.	0/10 g
Kanada <sup>c</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	n.a.	n.a.	negatív
WHO <sup>d</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	n.a.	n.a.	negatív
NNFA <sup>e</sup>	5,0 × 10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10	negatív	negatív
USP-étrend-kiegészítő	< 10 <sup>3</sup>	< 10 <sup>2</sup>	n.a.	n.a.	n.a.
USP-száritott növény	< 10 <sup>5</sup>	< 10 <sup>3</sup>	n.a.	n.a.	0/10 g
US FDA <sup>f</sup>	n.a.**	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Japán	< 10 <sup>5</sup>	< 10 <sup>3</sup>	n.a.	n.a.	negatív
Szervezet	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Staphylococcus</i>	Rovar részek (db)	Rágcsáló szőr (db)
AHPA <sup>a</sup>	0 CFU/g	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
EU <sup>b</sup>	0 CFU/g	10 <sup>3</sup> CFU/g	0/1 g	n.a.	n.a.
Kanada <sup>c</sup>	negatív	n.a.	< 10 <sup>3</sup> CFU/g	n.a.	n.a.
WHO <sup>d</sup>	10 CFU/g	10 <sup>3</sup> CFU/g	n.a.	n.a.	n.a.
NNFA <sup>e</sup>	negatív	n.a.	< 10 MPN/g	n.a.	n.a.
USP-étrend-kiegészítő	0 /10 g	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
USP-száritott növény	0/10 g	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
US FDA <sup>f</sup>	n.a.	n.a.	n.a.	150/50 g	1/150 g
Japán	negatív	10 <sup>3</sup> CFU/g	n.a.	n.a.	n.a.

<sup>a</sup> American Herbal Products Association (url<sup>7</sup>)

<sup>b</sup> European Pharmacopoeia (Kneifel *et al.*, 2002)

<sup>c</sup> Health Canada Compendium of Monographs (url<sup>8</sup>)

<sup>d</sup> World Health Organization (url<sup>9</sup>)

<sup>e</sup> National Nutritional Food Association (jelenleg: Natural Products Association) ajánlása gyógynövényekre

<sup>f</sup> United States Food and Drug Administration

\* telepképző egységek száma grammonként

\*\* nincs adat

*Egyéb fizikai és kémiai veszélyek*

Lacquerbe és mtsai (1970) megfigyelték, hogy a *Spirulina* hatékonyan megköti a nehézfémeket, így termesztésénél figyelni kell az ipari eredetű szennyeződésekre, a műtrágyák tisztaságára és természetes tavak esetében a talaj nehézfém-tartalmára, hogy elkerülhető legyen az ólom-, higany-, kadmium- és arzén-akkumuláció a termékben. Johnson és Shubert (1986a,b) a megengedettnél jóval nagyobb higanytartalomról számolt be. Egy későbbi, Slotton és mtsai (1989) által készített tanulmányból kiderült, hogy a Johnson és Shubert által használt induktív csatolású plazmaégős technológia során interferencia alakult ki a termék vastartalmával. Hideg gőzös atomabszorpciós és grafitkemencés atomabszorpciós eljárást alkalmazva sikerült elkerülni az interferenciát. Azóta egyetlen esetben sem detektáltak a termékben veszélyes mennyiségű higanyt (Belay, 2008).

A *Spirulina* felszaporítása során sem rovarirtó-, sem növényvédőszer nem használható, és folyamatosan figyelni kell esetleges jelenlétüket a termékben. A terméknek mentesnek kell lennie minden idegen anyagtól, amellyel a szaporítás, feldolgozás, csomagolás, szállítás és raktározás alatt potenciálisan szennyeződhet. Idegen anyagként leggyakrabban rovarok, rágcsálósőr és madártoll fordulnak elő. A vízirovarok vizsgálatára egy miozin ELISA módszert fejlesztettek ki Belay és mtsai (1996). A tollat és egyéb növényi maradványokat még betakarítás előtt kiszűrik. Tenyésztés során a *Spirulina* tenyészetnek mentesnek kell lennie minden egyéb cianobaktériumtól és algától, főleg a toxintermelőktől (url<sup>5</sup>). An és Carmichael (1996) megfelelő módszereket dolgozott ki microcystin és nodularin algatoxinok kimutatására.

## 2.5. *A tejsavbaktériumok savképzésének és szaporodási sebességének serkentése különböző kiegészítők felhasználásával*

A tejsavbaktériumok szaporodási sebességét és savtermelését mikroorganizmusok, magasabb rendű növények és állati szövetek különböző kivonataival stimulálhatjuk. A serkentésért felelős hatóanyagok közül néhányat már azonosítottak és alaposan tanulmányoztak, ellenben a többi még napjainkban is ismeretlen (Nath és Wagner, 1973; Smith *et al.*, 1975; Sugihara és Kline, 1975; Glass és Hedrick, 1976). Sprince és Woolley (1945) munkája hívta fel a figyelmet a baktériumok szaporodásához szükséges peptidok fontosságára. Későbbi kutatások peptidok és nukleinsavszármazékok jelenlétére mutattak rá fehérje hidrolizátumokban (Anderson és Elliker, 1953), hasnyálmirigy kivonatban (Sandine *et al.*, 1956; Koburger *et al.*, 1963), májban, élesztőkivonatban (Anderson és Elliker, 1953; Huhtanen és Williams, 1963; Smith *et al.*, 1975, Sugihara és Kline, 1975) és algakivonatokban (Shirota *et al.*, 1964; Stengel, 1970; Kurita *et al.*, 1979; Zielke *et al.*, 1978; Webb, 1982).

Huhtanen és Williams (1963) tanulmánya derített fényt arra, hogy a tejben kevés az RNS-t, ill. a DNS-t felépítő purin- és pirimidin-bázisok mennyisége, és a tej nem tartalmaz elegendő szabad aminosavat és oligopeptidet sem a tejsavbaktériumok optimális szaporodáshoz (Desmazeaud és Juge, 1976; Thomas és Mills, 1981), következésképpen a proteolízisnek kell a tejfehérjéből aminosavakat és kisebb molekulaméretű peptidokat felszabadítania (Pritchard és Coolbear, 1993).

A növényi és mikrobiális kivonatok szaporodásserkentő hatását számtalan módon vizsgálták: turbidimetriásan (Kennedy *et al.*, 1955; Sandine

*et al.*, 1956), a termelt tejsavmennyiség titrálós meghatározásával (Smith *et al.*, 1975), a pH-csökkenés mérésével (Koburger *et al.*, 1963), sejtszám-meghatározással (Nath és Wagner, 1973), bioautoradiográfias módszerrel (Kennedy *et al.*, 1955) és impedancia-méréssel (Okigbo *et al.*, 1985; Lanzanova *et al.*, 1993).

### 2.5.1. Nem alga alapú kiegészítők használata

Kennedy és Speck (1955), Kennedy és mtsai (1955), Huhtanen és Williams (1963) valamint Johnson és mtsai (1971) arról számoltak be, hogy a kukoricacsíra-kivonat serkenti néhány tejsavbaktérium savtermelését. Ezt az anyagot tekintélyes mennyiségben használják tápanyagforrásként az ipari fermentációkban alkalmazott gombák és baktériumok számára. Kennedy és Speck (1955) kimutatta, hogy a kukoricacsíra-kivonat tejben, vagy szintetikus táptalajokon tenyésztett tejsavbaktériumok számára szaporodáserkentő anyago(ka)t szolgáltat. Kennedy és mtsai (1955) tanulmányozták a kukoricacsíra-kivonat *Lb. caseire* gyakorolt hatását, de egyik ismert serkentőanyag sem tudta pótolni a kukoricacsíra-kivonat faktorait. A Zuraw *et al.* (1960) által elvégzett kísérlet eredménye azt mutatta, hogy a kukoricacsíra-kivonat fenilalanint és – valószínűsíthetően – nukleozidot tartalmaz, amelyek hozzájárulnak az anyag szaporodást elősegítő tulajdonságához.

Huhtanen és Williams (1963) az élesztőkivonatnak laktobacilluszokra gyakorolt serkentő hatását tanulmányozta. A tej purin-, ill. pirimidin-bázisokkal és aminosavakkal történő kiegészítése néhány *Lb. bulgaricus* és *Lb. acidophilus* törzsnél jelentős savtermelés-növekedést okozott.

---

Sók (részben nyomelemek), purinok, pirimidinek, kazein-hidrolizátumok és különböző mennyiségű Tween 80 adagolása jelentősen serkentette a *Lb. sanfranciscensis* szaporodását, de nem szüntette meg a frissen készített élesztőkivonat alkalmazásának szükségességét.

Smith és mtsai (1975) hét frakcióra bontották az élesztőkivonatot. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* szaporodására legserkentőbb hatása annak a frakciónak volt, amely 70%-nál több amino-nitrogént tartalmazott, szabad aminosavak széles skálájából és kis mennyiségű peptidanyagból állt. További vizsgálatok kimutatták, hogy a törzsek stimulálásáért az aminosavak, a purin- és pirimidin-bázisok és a szervesen összetevők felelősek. A *Lc. lactis* subsp. *lactis* szaporodás-serkentésének mértéke nitrogéntartalmú összetevőket felszabadító proteolitikus enzimeitől függ (Citti *et al.*, 1965).

Hat tejsavbaktérium-törzs szaporodási sebessége és savtermelése nőtt *Micrococcus* F4 izolátum jelenlétében. Nath és Wagner (1973) feltételezése szerint a tejsavbaktériumok mikrokokkuszos serkentésénél a hidrogén-peroxid lebontásában nyújtott segítség játszik szerepet. Vastartalmú ionok és kataláz tejhez történő adagolása serkentette néhány tejsavbaktérium savtermelését, nyilvánvalóan a metabolikusan termelődött, gátló hatású peroxidok lebontásának köszönhetően (Gilliland és Speck, 1969).

Koburger és mtsai (1963) arról számoltak be, hogy a hasnyálmirigy-kivonat serkentette a *Lc. lactis* tejben történő szaporodását. Az aktív összetevőt nukleinsav-származékokként (inozin, hipoxantin és adenin) azonosították. Sandine és mtsai (1956) szintén kimutatták, hogy a hasnyálmirigy-extraktum két serkentő anyagot tartalmaz a *Lc. lactis* és a *Lb. casei* számára. A serkentők egyike peptid jelleget mutatott.

Anderson és Elliker (1953) arról számolt be, hogy májdarabok, tripszinezett sovány tejpor és peptonizált tej adagolásával stimulálható a

kevert starterkultúrák és a *Lc. lactis* subsp. *lactis*, illetve a *Lc. lactis* subsp. *cremoris* tisztatenyészetek szaporodása. Eredményeik alapján, a megnövekedett szaporodási sebességért peptid vagy peptid-szerű anyagok felelősek és ezek az anyagok az enzimes tejkezelés során a tejfehérjéből a starterkultúrák számára elérhető formában szabadulnak fel.

*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 11842, illetve *Streptococcus thermophilus* ST20 fermentációjához alkalmazott savó-alapú tápközeg 1%-nyi, illetve 2%-nyi savófehérje-koncentrátummal kiegészítve szignifikánsan nagyobb sejtszámot és sokkal gyorsabb savtermelést eredményezett, mint a kontroll savó (Bury *et al.*, 1998).

#### 2.5.2. Alga alapú kiegészítők használata

Shirota és mtsai (1964) fedezték fel, hogy a *Chlorella* zöldalga-fajok egyes anyagai a laktobacillusok szignifikánsan gyorsabb szaporodását okozzák. A 0,5-2,0%-nyi *Chlorella* biomasszát tartalmazó tápközeg a kontrollhoz viszonyítva 7-szer több *Lactobacillus* sejtet tartalmazott 24 óra elteltével, 3-szor többet 48 óra után és 1,8-szer többet a 72. óra végén. Egy másik *Lactobacillus*-tenyészet, amelyben 1%-nyi *Chlorella* volt, annyi tejsavat termelt 48 óra alatt, mint a *Chlorella*-adagolás nélküli 144 óra alatt. A hatékony komponens vizsgálata során megállapították, hogy az mindegyik tesztelt *Lactobacillus*-törzs szaporodását serkentette, és egyben növelte a termelt tejsav mennyiségét is. Kurita és mtsai (1979) vizsgálatokat végeztek azzal a céllal, hogy meghatározzák a *Chlorella*-kivonat *Lactobacillus*-fajok szaporodásának serkentéséért felelős anyagait. Eredményeik szerint a tapasztalt serkentésért két nukleozid, az adenzin és a guanozin felelős.

---

Zielke és mtsai (1978) kimutatták, hogy a *Scenedesmus acutus* zöldalga melegvizes extraktuma serkenti a *Lb. casei* subsp. *casei* biovar. *shirota*, a *Lc. lactis* és a *Sc. thermophilus* savtermelését. Az algakivonatban található peptont, adenint és hipoxantint találták felősnek az észlelt szaporodás-serkentésért.

Varga (1999), valamint Varga és mtsai (1999) tej tápközegben vizsgálták a *Spirulina* biomassza termofil tejsavbaktériumokra és bifidobaktériumokra kifejtett hatását. Mind a tiszta-, mind a kevert-tenyészetek esetében szignifikánsan nagyobb volt a cianobaktérium-kiegészítést tartalmazó minták savtermelésének mértéke a kontroll mintákéhoz képest. A *Spirulina*-kiegészítés javította az ún. ABT-típusú probiotikus savanyú tejtermékben a starterkultúrát alkotó komponensek (*Lb. acidophilus*, bifidobaktériumok, *Sc. thermophilus*) életképességét is a termék hűtve tárolása során (Varga *et al.*, 2002).

### 2.5.3. A *Spirulina* aktív anyagainak antimikrobiális hatása élelmiszer-eredetű patogén és romlást okozó mikroorganizmusokra

Több szerző is beszámolt a *Spirulina* antimikrobiális hatásáról, amelyet különféle kémiai összetevőknek tulajdonítanak (Borowitzka, 1995; De Mulé *et al.*, 1996; Kreitlow *et al.*, 1999; Ozdemir *et al.*, 2004). A *Spirulina* anyagainak komplex hatását szerves oldószerekkel kinyert extraktumokkal végzett kísérletek útján vizsgálták leggyakrabban. A *Spirulina* metanolos kivonatának antimikrobiális hatását a  $\gamma$ -linolénsav jelenlétével magyarázták (De Mulé *et al.*, 1996). Ez a zsírsav viszonylag nagy mennyiségben fordul elő ebben a cianobaktérium fajban (Xue *et al.*, 2002), de többen a *Spirulina*-ban található szterineknek is antimikrobiális

hatást tulajdonítanak (Borowitzka és Borowitzka, 1988; Ötles és Pire, 2001; Xue *et al.*, 2002).

A lipofil bioaktív komponensek kivonásakor számos probléma merül fel a maradék szerves oldószerek jelenléte és a kivonat változékonysága miatt. Az említett hátrányok kiküszöbölésére fejlesztették ki a szuperkritikus folyadék-extrakciót (SFE) (King, 2000). A módszer nagyobb szelektivitást biztosít rövidebb idő alatt, és jótékonyan hat a végtermék minőségére is. Ráadásul környezetbarát eljárásról van szó, ami elsősorban a veszélyes oldószerek elhagyásának köszönhető. Careri és mtsai (2001) összehasonlították az SFE-vel, ill. a hagyományos folyadék-extrakcióval készített kivonatok karotinoid-tartalmát, és nem találtak szignifikáns különbséget az eredmények között.

Mendiola és mtsai (2007) az SFE-vel készített *Spirulina* kivonat MIC (minimális gátlóanyag koncentráció), MBC (minimális bakteriosztatikus koncentráció), valamint MFC (minimális fungisztatikus koncentráció) értékeit határozták meg egy Gram-negatív (*Escherichia coli*) és egy Gram-pozitív (*Staphylococcus aureus*) baktériumra, továbbá egy élesztőgombára (*Candida albicans*) és egy penészgomba-fajra (*Aspergillus niger*) vonatkozóan. A vizsgált mikroorganizmusokra gyakorolt hatás alapján a legjobb eredményt a 220 bar nyomáson és 26,7°C-os hőmérsékleten 10% alkohol jelenlétében készített kivonattal érték el. Az eredmények alapján a *C. albicans* volt a legérzékenyebb, míg az *A. niger* volt a legkevésbé fogékony a kezelésre. Elvégezték a kivonat zsírsav-összetételének meghatározását is lángionizációs detektorral kapcsolt gázkromatográf segítségével. A linolsav mennyiségét olyan kicsinek találták, hogy az egyedül nem lehetett az antimikrobiális tulajdonság okozója. A vizsgálatok során detektált palmitolein-, laurin- és olajsavval kapcsolatban szintén tapasztaltak már



---

mikroorganizmus gátló hatást (Ouattara *et al.*, 1997; Benkendorff *et al.*, 2005), így előfordulhat, hogy a kivonatban található zsírsavak szinergista hatása okozta az észlelt antimikrobiális aktivitást.

## **2.6. Funkcionális élelmiszerek definíciói**

Az utóbbi időben jelentősen gyarapodtak az étrend egészségre és közérzetre gyakorolt hatásával kapcsolatos ismereteink (Young, 2000; Mollet és Rowland, 2002). A megfelelő élelmiszer-összetevők felhasználásával “megszerkesztett”, egészségi hasznot eredményező élelmiszereket nevezzük funkcionális (tervezett, nutraceuticals) élelmiszereknek (Holm, 2004). Az ilyen termékek iránti fokozódó kereslet többek között az egészségügy növekvő költségeivel, a várható élettartam növekedésével és az idősebb korosztályok életminőség-javulás iránti igényével magyarázható (Roberfroid, 2000a,b; Kotilainen *et al.*, 2006).

Marketing-elemzések szerint a funkcionális élelmiszerek piaca nagyon széles spektrumú és gyorsan növekvő. A globális piacot 73 milliárd euróra becsülik, és az éves bővülése 8-16%. A funkcionális élelmiszerek hatása számos egészségügyi problémát kiváltó állapotra és betegségre összpontosul, különösen a szív- és érrendszeri betegségekre, a csontritkulásra, a bélrendszer működésére, az elhízásra, a cukorbetegségre, a rosszindulatú daganatokra, valamint a testi és szellemi funkciókra (Holm, 2004).

A fejlett világban megváltozott a táplálék fogalma. A táplálkozás a múltban a túlélésről, az éhség kielégítéséről és a klasszikus tápanyaghiány-betegségek megelőzéséről szólt, mára viszont előtérbe került az élelmiszereknek az a tulajdonsága is, hogy kiválóan alkalmazhatóak a jobb

egészség és közérzet kialakításában és fenntartásában; ezáltal segítenek az idült betegségek és állapotok kockázatának mérséklésében (Roberfroid, 2000a; Menrad, 2003). Elegendő ételmyszer birtokában nincs mennyiségi éhezés, azonban előfordulhat, hogy az egészség megőrzéséhez szükséges ételmyszerek összetételében hiányok lépnek fel (pl. fehérjehiányos táplálkozás). Az ételmyszerek egészségmegőrző, betegségmegelőző szerepe az utóbbi évtizedben vált lényegessé, amikor klinikai vizsgálatokkal támasztották alá néhány létfontosságú vitamin és ásványi anyag hiányát és az ezzel összefüggő betegségek fellépését. Magyarországon ma a lakosság alig 16%-a táplálkozik egészségtudatosan, azaz válogatja meg mindennapi ételét, italát a táplálkozástudományi útmutatók szerint és veszi figyelembe az ételmyszerek egészségőrző funkcióját (Biacs, 2006).

A “funkcionális ételmyszer” kifejezés eddig még nem jutott el a hivatalos meghatározásig (Alzamora *et al.*, 2005), így jelenleg többféle megközelítés is létezik. Az 1980-as években keletkezett japán definíció szerint olyan ételmyszerekről van szó, amelyek speciális alkotórészeiknek köszönhetően előnyös élettani hatást fejtenek ki (Hardy, 2000; Kwak és Jukes, 2001; Stanton *et al.*, 2005). Japán egészségügyi minisztériuma 1991-ben szabályozta a speciális, egészséggel kapcsolatos ételmyszer-kategória, azaz a FOSHU (Food for Specified Health Uses) elnyerésének feltételeit. Japánban a tradicionális funkcionális ételmyszerek elkülönített csoportot képeznek és egy igazoló eljárás után a termék csomagolásán megjelenhet a FOSHU-jel. E termékek esetében a funkcionalitás elsőbbséget élvez az ízzel szemben. Európában és az Amerikai Egyesült Államokban más a koncepció: már meglévő, tradicionális ételmyszer-termékeknek adnak funkcionalitást, és az ilyen termékek nem alkotnak külön csoportot (Hilliam, 1998; Kotilainen *et al.*, 2006; Fern, 2007). A funkcionális tulajdonság hozzáadott értéket jelent a

---

fogyasztó számára, de nem tudja felülmúlni az élelmiszer érzékszervi tulajdonságait (Siró *et al.*, 2008).

Európában a FuFoSE (Functional Food Science in Europe) elnevezésű projekt is kidolgozott egy definíciót a funkcionális élelmiszerekre. Eszerint egy élelmiszer akkor tekinthető funkcionálisnak, ha kielégítően bizonyított, hogy jótékonyan hat a szervezet egy vagy több célfunkciójára a megfelelő (normális) táplálkozási hatásokon túl, olyan módon, amely lényeges akár a jobb egészségi állapot, vagy a betegségi kockázat csökkentése szempontjából (Hawkes, 2004; Holm, 2004). A Nemzetközi Élelmiszer-információs Tanács (International Food Information Council) meghatározásában a funkcionális élelmiszerek az alapvető tápanyag-igény kielégítésén túl többlet egészségügyi előnyökkel bírnak (Food Insight Media Guide, 1998). Ez a meghatározás hasonló ahhoz, amit az Észak-Amerikai Nemzetközi Élettudományi Intézet (Life Science Institute of North America) tett közzé: a funkcionális élelmiszerek fiziológiailag aktív alkotórészeiknek köszönhetően a szokásos táplálkozási célon kívül egészségre ható előnyökkel is bírnak (International Life Sciences Institute, 1999). A Health Canada ([url<sup>10</sup>](#)) definíciója szerint a funkcionális élelmiszerek kinézetre hasonlítanak azokhoz a hagyományos élelmiszerekhez, amelyek a mindennapi táplálkozás részei, ugyanakkor olyan bizonyított fiziológiai hatásaik is vannak, amelyek az alapvető táplálkozási funkcióikon túlmenően csökkentik az idült betegségek kockázatát. Az Amerikai Nemzeti Tudományos Akadémia Gyógyszerészeti Intézete (The Institute of Medicine of the National Academy of Sciences) azokra a funkcionális élelmiszerekre koncentrál, amelyekben egy vagy több összetevő azért manipulált, vagy módosított, hogy hozzájáruljon az egészséges táplálkozáshoz (American Dietetic Association, 2004).

A funkcionális élelmiszerek fejlesztésének hajnalán az élelmiszerek vitamin (pl. C- és E-vitamin) és/vagy ásványi anyag (pl. cink, vas, kalcium) tartalmát növelték meg (Sloan, 2000), következésképpen a hangsúly átkerült a mikrotápanyagokkal (pl. omega-3 zsírsavakkal, fitoszterinnel és diétás rostokkal) dúsított élelmiszerekre (Sloan, 2002). Napjainkra az élelmiszeripari cégek már megtették a következő lépést is abba az irányba, hogy élelmiszereink különféle egészségvédő hatással rendelkezzenek (Sloan, 2004). Szinte minden élelmiszeripari ágazatban fejlesztettek ki funkcionális élelmiszereket. A termékek szempontjából többféle módon csoportosíthatjuk a funkcionális tulajdonságokat, az egyik megközelítés a **6. táblázatban** látható.

**6. táblázat:** A funkcionális termékek főbb típusai (Kotilainen *et al.*, 2006; Spence, 2006)

<b>Funkcionális élelmiszer típusa</b>	<b>Meghatározás</b>	<b>Példa</b>
Megerősített termék	Egyik tápanyag mennyiségének további növelése	Gyümölcslé C-vitamin tartalmának növelése
Dúsított termék	Új összetevő hozzáadása, amely korábban nem volt megtalálható a termékben	Pro- és prebiotikumok joghurtban
Megváltoztatott termékek	Az élelmiszer káros anyagainak megszüntetése, csökkentése, vagy cseréje jótékony hatással rendelkező összetevővel	Élelmi rostok használata jégkrémekben, kolbászfélékben
Javított alapanyagból készített termékek	Sajátos szaporítási körülmények, új takarmány-kiegészítők, genetikai manipuláció vagy egyéb módszer révén az élelmiszer egyik összetevőjének mennyisége természetes módon fokozódik.	Megváltoztatott tojótáp-összetételnek köszönhetően omega-3 zsírsav-tartalmában növelt tojás

### 2.7. Új termékek fejlesztésének jelentősége

A vállalatok világát az innovációs kényszer uralja. Publikációk útján közzétett nagyszámú információ és adat bizonyítja, hogy a sikeres vállalatok

---

nyereségének jelentős hányadát új termékek piacra vitele biztosítja (Vágási, 2001). Az USA-ban végzett elemzések szerint a gyártók nyereségének több mint a fele tíz évnél fiatalabb termékekből, és az értékesítési árbevétel negyede öt évnél fiatalabb termékekből származik (Lehota, 2001). A tejipar is az új termékek iránti kereslet jellemzi. Egy új íz-, vagy színvilág komoly lehetőséget rejt magában. A termék elfogadtatását nagyban segítheti, ha funkcionális tulajdonságokkal ruházzuk fel. A tömegtermékek közötti választáskor sokszor az ár dönt, míg a különleges élelmiszerek esetében inkább a minőség és az egyedi tulajdonságok (Szente *et al.*, 2007).

A termékfejlesztések szerves részét képezik az érzékszervi bírálatok, amelyekkel két, vagy több termék érzékszervi tulajdonságait hasonlítjuk össze megközelítőleg objektív módon. Ezeket meg kell különböztetnünk a hagyományos értelemben vett kóstolástól, amely alatt a nem képzett kóstolók jelentős szubjektivitást hordozó érzékszervi bírálatát értjük. Belőle kiindulva azonban a módszertani fejlesztések révén kialakítottak egy olyan, statisztikai elemekkel alátámasztott értékelési rendszert, amellyel tudományos alapokon álló kedveltség (preferencia vagy hedonisztikus)-vizsgálatok végezhetőek (Molnár, 1991).

### 3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Vizsgálataimat a Nyugat-magyarországi Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszer-tudományi Kara Élelmiszer-tudományi Intézetének Deutscher AkkreditierungsRat által akkreditált mikrobiológiai laboratóriumában (DAR regisztrációs szám: DAP-PL-3042.00) végeztem.

#### 3.1. A *Spirulina* biomassza mikrobiótája

##### 3.1.1. A porított *Spirulina* biomassza

A porított *Spirulina* biomasszát (**7. ábra**) az Earthrise Nutritionals LLC amerikai cég franciaországi forgalmazójától (Natesis Sarl, Bourges, Franciaország) vásároltuk. A készítmény 941 g teljes szárazanyagot, 576 g fehérjét, 111 g lipidet, és 114 g hamut tartalmazott kilogrammonként. Színe sötétzöld, szaga és íze enyhén fűre emlékeztető volt. Felhasználásig 4°C-on tároltuk. Ezen kívül a németországi Bergholz-Rehbrückében található Institut für Geteideverarbeitungtól is érkezett hozzánk *Spirulina*-minta, amelyet szintén bevontunk mikrobiológiai vizsgálatainkba.



**7. ábra:** A kísérletekhez felhasznált porított *Spirulina* biomassza

### 3.1.2. A mikrobiológia vizsgálat menete

A csomagolás megbontásakor ellenőriztem a Spirulina biomassza mikrobiológia állapotát, a European Pharmacopoeia ajánlása szerint (Kneifel *et al.*, 2002). Az idegen anyagok jelenlétének kimutatása érdekében G/433617 típusú kutató mikroszkóp (Carl Zeiss, Jena, Németország) segítségével mikromorfológiai vizsgálatot végeztem.

10 g Spirulina mintát aseptikus körülmények között 9-szeres mennyiségű hígítófolyadékkal rázogatózás kíséretében összekevertem. Az így előállt kiindulási hígítást közvetlenül, vagy további hígítások formájában használtam mikrobiológiai vizsgálatra. A megfelelő hígítási tagokból 1-1 cm<sup>3</sup>-nyi mennyiségeket steril Petri-csészébe pipettáztam, majd az egyes módszereknél megadott táptalajokkal lemezt öntöttem.

Az **összcsíraszám meghatározás** az ASU L 00.00-88 számú német szabvány (2004) alapján zajlott Plate Count (PC) táptalajjal (Merck KGaA, Darmstadt, Németország). Az agarlemezeket megszilárdulás után 30±1°C-on 72±3 óráig inkubáltam WTB Binder KB-53 típusú termosztátban (Binder GmbH, Tuttlingen, Németország). Minden hígítás esetében két párhuzamos leoltást végeztem.

Az **élesztőgomba- és penészgomba-szám meghatározást** az ASU L 01.00-37 számú német szabvány (1991) előírásai szerint YGC agarral (Merck) hajtottam végre. A lemezek tenyésztése aerob módon, 96±3 óráig, 25±1°C-on történt. Telepszámlálásnál az élesztő-, illetve fonalgomba telepeket elkülönítetten vettem figyelembe.

A **Salmonella jelenlét-hiány kimutatási vizsgálat** során az ASU L 00.00-20 számú német szabványt (2004) vettem alapul. Az eljárást általában

több egymást követő lépésben hajtjuk végre, mivel a *Salmonella* a mintában kis számban, szubletálisan sérülten, vagy nagy számú egyéb enterobaktérium kíséretében fordul elő.

*Elődúsítás.* A mintát nem szelektív, folyékony tápközegben (pufferelt peptonvíz)  $37\pm 1^\circ\text{C}$ -on kell tenyészteni  $18\pm 2$  óráig, hogy a szubletálisan sérült baktériumok feléledjenek, és kimutatható számban legyenek jelen. Nagy mennyiség esetén, beoltás előtt a peptonvizet  $37\pm 1^\circ\text{C}$ -ra fel kell melegíteni.

*Dúsítás.* Két folyékony, szelektív tápközeget (RVS levest és MKTTn levest) (Merck) kell beoltani az inkubált elődúsító-közeg meghatározott mennyiségével. Az MKTTn levest  $37\pm 1^\circ\text{C}$ -on,  $24\pm 3$  óráig, az RVS levest  $41,5\pm 1^\circ\text{C}$ -on,  $24\pm 3$  óráig inkubáljuk. A *Salmonella* a szelektív közegben túléli az inkubációt, ill. szaporodik, a kísérőflóra pedig gátolt a szaporodásban, vagy akár el is pusztul.

*Izolálás (kimutatás).* Az inkubációs idő letelte után dúsítónként egy-egy oltókacsnyi mintát kell ritkító szélesztéssel kikenni brillantzöld–fenolvörös–laktóz–szacharóz (BPLS) és xilóz–lizin–dezoxikolát (XLD) agarlemezekre (Merck), majd ezeket  $24+24$  óráig  $37\pm 1^\circ\text{C}$ -on szükséges inkubálni. *Salmonella*-gyanús telepek (BPLS: halványpiros telepek piros udvarral; XLD: piros vagy narancsszínű áttetsző telepek fekete középponttal, piros közegháttérrel) esetén szerológiai és biokémiai módszerekkel azonosítását kell elvégezni. Az identifikálás megkezdése előtt öt gyanús telepet kell kiválasztani és tápagar lemezekre kiszéleszteni, majd a lemezeket  $37\pm 1^\circ\text{C}$ -on 20-24 óráig kell inkubálni. A lemezeken keletkező egyedi telepek képezhetik a további szerológiai és biokémiai vizsgálatok alapját. *Salmonella*-jelenlétet csak az O- és H-antigén egyértelmű detektálása, valamint a biokémiai jellemzők minden kétséget kizáró azonosítása után lehet megállapítani.



---

Az *Enterobacteriaceae* szám-meghatározás az ASU L 05.00-5 német szabvány (1990) szerint zajlott. A lemezöntést kristályibolya-neutrálvörös-epe-glükóz (VRBG) agarral (Merck) végeztem két rétegben. A lemezek tenyésztése aerob módon,  $30\pm 1^\circ\text{C}$ -on,  $48\pm 3$  órán keresztül történt. A kiértékelésbe a vörös vagy vörös kicsapódási zónával körülvevő telepeket vontam be.

Az *Escherichia (E.) coli*-szám meghatározásához Chromocult Coliform agarral (Merck) lemezöntést végeztem. A lemezeket  $24\pm 3$  órán át,  $37\pm 1^\circ\text{C}$ -on inkubáltam aerob körülmények között, majd a kifejlődött telepeket megszámláltam, és a minta g-jára vagy  $\text{cm}^3$ -ére vonatkoztattam. Az X-glükoronid szubsztrát az *E. coli*-ra jellemző  $\beta$ -D-glükoronidáz enzim azonosítására használható. Az *E. coli* mind a Salmon-GAL, mind az X-glükoronidáz hasítására képes, így a pozitív telepek színe sötétkéktől ibolyaszínűig terjed. Az *E. coli* telepek megerősítésére néhány csepp Kovács-féle indol reagenst cseppentettem a sötétkék színű telepekre. Ha a reagens néhány másodperc alatt meggypiros színűre változott, a pozitív indolreakció megerősítette az *E. coli* jelenlétét.

A koaguláz-pozitív *Staphylococcus*-ok számának meghatározása az ASU L 00.00-55 német szabványt (2004) követve zajlott. A minta alaphígításából az ún. háromlemez módszerrel végeztem felületi szélesztést, majd  $0,1-0,1 \text{ cm}^3$ -t szélesztettem el szelektív Baird-Parker agaron (Merck). A lemezeket  $37\pm 1^\circ\text{C}$ -on aerob körülmények között tenyésztettem, és  $24\pm 3$  óra után, majd  $48\pm 3$  óra elteltével ellenőriztem. A tipikus és atípusos telepeket koaguláz-tesztel erősítettem meg. A koaguláz-pozitív sztafilokokkuszok grammonkénti számát a lemezeken leszámlált, és pozitívként megerősített telepek arányából határoztam meg.

A lemezeken kifejlődött telepek esetlegesen szükséges megerősítő vizsgálatainak elvégzése után csak azokat a lemezeket vontam be az értékelésbe, amelyeken a tipikus telepek száma 10-300 közötti volt. A csíraszámot az értékelésbe bevont lemezeken megszámlált telepszámok súlyozott átlagaként adtam meg a hígítási fok figyelembe vételével az alábbi képlet alapján:

$$\bar{C} = \frac{\sum c}{(n_1 + 0,1n_2) \times V \times d},$$

ahol:

$\bar{c}$  = a telepszám súlyozott középértéke,

$\sum c$  = a számításba bevont valamennyi lemez telepeinek összege (a legalacsonyabb és az azt követő kiértékelhető hígítási fokok),

$n_1$  = az első kiértékelhető hígítási fokhoz tartozó lemezek száma,

$n_2$  = a következő kiértékelhető hígítási fokhoz tartozó lemezek száma,

$d$  = az első kiértékelte hígítási szint hígítási foka,

$V$  = a lemezekre vitt inokulum mennyisége.

### ***3.2. A mezofil tejsavbaktériumok savtermelésének és sejtszám-változásának nyomon követése***

#### ***3.2.1. A modell közeg bemutatása***

Alapanyagként Delvotest<sup>®</sup> SP MINI készülékkel (Gist-Brocades, Delft, Hollandia) ellenőrzötten antibiotikum-mentes, ultrapasztőrözött, homogénezett tejet használtam, amely 28 g/dm<sup>3</sup> zsírt, 34 g/dm<sup>3</sup> fehérjét, 47 g/dm<sup>3</sup> laktózt és 7 g/dm<sup>3</sup> ásványi anyagot tartalmazott. A tejet 10 percig 90±1°C-on hőkezelttem, mielőtt visszahűtöttem az inokulálás hőmérsékletére, hogy biztosítsam a savófehérjék megfelelő mértékű denaturációját (Kessler, 1988a,b).

3.2.2. A vizsgálatba bevont mezofil tejsavbaktérium törzsek ismertetése

A vizsgálatokhoz felhasznált tejsavbaktérium törzseket a **7. táblázatban** tüntettem fel. Egy sorban ugyanannak a törzsnek más-más törzsgyűjteményben nyilvántartott jelzése látható.

**7. táblázat:** A kísérletek során alkalmazott tejsavbaktérium-törzsek és kultúrák

Tejsavbaktériumok	Törzsek száma, kultúrák jelzése			
	BCCM*	NCAIM**	MTKI***	ATCC****
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>			Ha-2	
	LMG 8522	B.2125		
	LMG 9451	B.2128		
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> var. <i>diacetylactis</i>			W-24	
	LMG 7931	B.2122		11007
	LMG 7949	B.2123		20661
	LMG 9441	B.2126		13675
	LMG 9444	B.2127		
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	LMG 7951	B.2124		14365
	LMG 6897			19257
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i>	LMG 6909	B.2120		19254
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i>		B.1658		19255
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> var. <i>diacetylactis</i> , <i>Leuconostoc</i> spp.			CHN-22	
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> var. <i>diacetylactis</i> , <i>Leuconostoc</i> spp. <i>Streptococcus termophilus</i>			XPL-1	

\* Belgian Co-ordinated Collection of Microorganisms

\*\* National Collection of Agricultural and Industrial Microorganisms (Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteménye)

\*\*\* Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet / Chr. Hansen

\*\*\*\* American Type Culture Collection

A *Ln. mesenteroides* subsp. *dextranicum* B.1658 törzset a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből (NCAIM, Budapest, Magyarország), a többit pedig egy belga törzsgyűjteményből (Belgian Co-ordinated Collection of Microorganisms, Gent, Belgium) szereztem be. Az optimális *Spirulina* biomassa-koncentráció meghatározásához használt *Lc. lactis* subsp. *lactis* Ha-2 és *Lc. lactis* subsp. *cremoris* W-24 törzseket és a keverékkultúrákat a Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet (MTKI, Mosonmagyaróvár, Magyarország) bocsátotta rendelkezésemre.

A dupla ampullás, vákuumzárásos, liofilezett preparátumokat bioprotektív lamináris boxban, az előírásoknak megfelelően, 0,3 cm<sup>3</sup>-nyi fiziológiás sóoldatban rehidratáltam, majd módosított MRS táptalajra és táplevesbe (a glükózt laktózzra cseréltem, így MRS-L elnevezést kapott) oltva 48±3 óráig, 30±1°C-on inkubáltam. A tápközeget a **Melléklet**ben található komponensek összemérésével készítettem el. A módosításra azért volt szükség, mert korábbi tapasztalataim szerint a *Lactococcus* törzsek jobban szaporodtak MRS-L tápközegen, mint M17 agaron. A kultúrákat kezdetben -70±3°C alatti hőmérsékleten, U 41085 típusú ultra-mélyfagyasztóban (New Brunswick Scientific, New Brunswick, NJ, USA), 30% glicerint tartalmazó steril Eppendorf csövekben, később Microbank rendszerű, felületkezelt gyöngyöket tartalmazó csavaros fiolákban (Pro-Lab Diagnostics, Toronto, Kanada) tároltam. Minden kísérlet előtt felolvasztottam egy-egy cső tartalmát, illetve kivettem egy-egy gyöngyöt, és 10 cm<sup>3</sup> MRS-L levesben 30±1°C-on, 24±3 órán át tenyésztettem, majd 1 cm<sup>3</sup> baktérium-szuszpenzióval átoltást végeztem a 3.2.1. alfejezetben ismertetett tulajdonságokkal rendelkező, 10 cm<sup>3</sup>-nyi UHT tejbe és a kémcsöveket

---

$30\pm 1^{\circ}\text{C}$ -on  $24\pm 3$  órán keresztül inkubáltam. Minden kísérlethez 24 órás tenyészetet használtam fel.

A mélyhűtött állapotban forgalmazott vegyes tenyészeteket 0,1%-os mennyiségben steril tejbe oltottam, majd  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ -on  $24\pm 3$  órán keresztül inkubáltam.

### 3.2.3. *Beoltás, inkubálás és pH-mérés*

A Spirulina biomasszával különböző koncentrációkban kiegészített, modell-tápközegként szolgáló tejtételeket a vizsgálni kívánt mezofil tejsavbaktérium törzsek 1%-nyi inokulumával oltottam be. Kontrollként ugyanezeknek a kezeléseknél Spirulina nélküli változatait állítottam be. A tenyésztést  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ -ra beállított, GFL 1003 típusú vízfürdőben (Gesellschaft für Labortechnik mbH, Burgnedel, Németország) végeztem. A kezeléseket 3 párhuzamos beállítása mellett, 2 ismétlésben hajtottam végre. Kétóránként végeztem pH-mérést Hanna HI 8521 pH-mérővel és a kapcsolt üveg elektróddal (Hanna Instruments Deutschland GmbH, Karlsruhe, Németország), amelyet a mérés előtt 7,01-os és 4,01-os pH-jú standard puffer oldatokkal (Merck) kalibráltam  $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ -on.

Hasonló módszerrel ellenőriztem a hőkezelés Spirulina biomasszára gyakorolt hatását is: a 10 percig tartó,  $90^{\circ}\text{C}$ -os hőkezelés előtt hozzáadtam a modell közegként szolgáló tejhez 0,3%-nyi Spirulina biomasszát, és a fermentációs folyamatot kétóránkénti pH-méréssel követtem nyomon.

#### 3.2.4. *A kiválasztott Lactococcus-törzsek sejtszám-változásának nyomon követése*

A kísérlet beállítása a 3.2.3. alfejezetben leírt módon történt, vagyis a *Spirulina* biomasszával kiegészített tejtételeket, valamint a kontroll tejet a vizsgálni kívánt *Lactococcus*-törzsekkel oltottam be 1%-nyi mennyiségben. A tenyésztést  $30\pm 1^\circ\text{C}$ -os vízfürdőben végeztem. A kezeléseket 3 párhuzamos beállítása mellett 2 ismétlésben hajtottam végre. A mintavétel a 0., a 6. és a 12. órában történt. A hígítási sorok elkészítése után lemezöntéses módszerrel határoztam meg az egyes minták *Lactococcus*-számát M17 (Merck) táptalajon. A leöntött lemezeket  $72\pm 3$  óráig  $30\pm 1^\circ\text{C}$ -on inkubáltam aerob körülmények között. A csíraszám-meghatározás a 3.1.2. alfejezetben leírt képlet felhasználásával történt.

### 3.3. *A Spirulina biomassza antimikrobás hatásának vizsgálata*

Az agardiffúziós és a sorozathígításos teszt standard módszer az antimikrobiális anyagok mikroorganizmusok érzékenységére gyakorolt hatásának vizsgálatára. Mindkét típusra létezik módszerajánlás nemzeti és nemzetközi szinten (European Pharmacopoeia, 2005; Clinical and Laboratory Standards Institute, 2006a,b).

Az agardiffúziós módszer onnan kapta a nevét, hogy a vizsgálandó vegyületek az agarlemezben diffundálni képesek, és hatékonyságuktól függő mértékben váltják ki a teszt-mikroorganizmusok szaporodás-gátlási zónáját. A gátlási zóna nagysága függ a vegyület diffúziós sebességétől, koncentrációjától és a mikroba érzékenységétől. Az eljárás lényege, hogy az

---

előre elkészített táptalajba külső hordozóanyag segítségével (pl. korong, tableta), vagy anélkül (lyuktesztnél egyszerűen vizes oldatban) diffúzióval juttatjuk be a hatóanyagot.

A lyukteszt módszer lényege az, hogy a vizsgálandó mikroorganizmusok szuszpenziójával lemezeket öntünk, majd a vizsgálandó anyag vizes oldatából készített hígítási sorból azonos mennyiségeket ( $0,2 \text{ cm}^3$ ) viszünk az agarba fúrt lyukakba. Ezt követően a Petri-csészéket meghatározott ideig (általában 24-48 óráig) inkubáljuk. A gátlóanyag a táptalajba diffundál, és – amennyiben a mikroorganizmus érzékeny az adott szerre – a lyuk körül gátlási zónát hoz létre, amelyen belül mikrobaszaporodás nem tapasztalható. A gátlási zóna átmérőjének mérésével következtethetünk a vizsgált anyag hatékonyságára.

Az agardiffúziós teszt előnye az egyszerűség és a költségtakarékosság, fő hátránya pedig a MIC érték meghatározásának bonyolultsága, ami a gátlási zóna átmérőjére alapozva történik (Kolbert és Shah, 2002). A gátlási zóna átmérőjét nemcsak az anyag bioaktivitása, hanem a hidrofil agarban mutatott diffúziós és vándorlási tulajdonságai is befolyásolják, amely nagymértékben függ az összetevők vízdékonyságától.

### *3.3.1. A gátlási vizsgálatokba bevont tesztörzsek*

A *Spirulina* antimikrobás hatásának megállapításához összesen 33 (köztük 18 Gram-pozitív és 15 Gram-negatív) baktérium-, 11 fonalgomba- és 4 élesztőgomba-törzset használtam fel. Az élelmiszer-eredetű patogének mellett bevontam a vizsgálatokba élelmiszer-romlást okozó mikrobákat is, amelyeket a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből (NCAIM) és az Orvosi Baktériumok Magyar Nemzeti

Gyűjteményéből (HNCMB, Budapest, Magyarország) szereztem be, vagy a saját laboratóriumunk korábbi vizsgálatai során izolált és azonosított mikrobákból kialakított Törzsgyűjteményből (T és GY) választottam ki. A **8. táblázat** a vizsgálatba bevont mikrobák tudományos neve mellett összefoglalóan tartalmazza azok törzsgyűjteményi számát és az adott mikroba fenntartására alkalmazott tápközeg nevét, a tenyésztési időt és a tenyésztési hőmérsékletet.

A termofil és mezofil baktériumokat tripton-szója ferdeagaron (Trypton Soybean Agar, TSA) (Merck) tartottam fenn. A csöveket és a lemezeket  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ -on  $24\pm 3$  óráig, illetve  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ -on 24-48 óráig inkubáltam aerob körülmények között. *Clostridium* fajok esetében Reinforced Clostridial Mediumot (RCM) (Merck) használtam, és a csöveket anaerob körülmények között tenyésztettem. A fonalgombákat burgonya-keményítő agaron (Potato Dextrose Agar, PDA) (Merck) tenyésztettem  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ -on 4-7 napig, amíg elegendő konídiumot képeztek; az élesztőket pedig glükóz-élesztőkivonat-pepton ferdeagaron (Glucose-Yeast Extract-peptone Agar, GYP) (Merck),  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ -on 48-72 óráig inkubálva. A baktériumok és az élesztőgombák átoltását havi, míg a fonalgombák átoltását kéthavi rendszerességgel végeztem el, és a csöveket hűtőszekrényben tároltam. A referencia-gyűjteményünkben található törzseket Microbank rendszerben  $-70^{\circ}\text{C}\pm 3$  alatti hőmérsékleten tároljuk.



**8. táblázat:** A gátlási vizsgálatokba bevont mikroorganizmus-törzsek

Törzsgyűjteményi szám	Faj	Tápközeg/ Tenyésztési hőfok (°C) / Tenyésztési idő (h)
T1	<i>Acetobacter</i> sp.	TSA/30±1/24-48
HNCMB 10000	<i>Bacillus cereus</i>	TSA/37±1/24-48
HNCMB 101007	<i>Bacillus coagulans</i>	TSA/37±1/24-48
HNCMB 101015	<i>Bacillus megaterium</i>	TSA/30±1/24-48
HNCMB 101020	<i>Bacillus subtilis</i>	TSA/37±1/24
T4	<i>Bacillus mycoides</i>	TSA/30±1/24-48
NCAIM B.01292	<i>Bacillus thuringiensis</i>	TSA/37±1/24-48
NCAIM B.01468	<i>Citrobacter freundii</i>	TSA/37±1/24-48
T13	<i>Clostridium butyricum</i>	RCM/30±1/120
HNCMB 105009	<i>Clostridium histolyticum</i>	RCM/37±1/24-48
NCAIM B.01417	<i>Clostridium perfringens</i>	RCM/37±1/24-48
T14	<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	RCM/30±1/120
GY2	<i>Enterobacter aerogenes</i>	TSA/30±1/24-48
IFS-10	<i>Enterobacter cancerogenus</i>	TSA/37±1/24
GY5	<i>Enterobacter cloacae</i>	TSA/30±1/24-48
HNCMB 80171	<i>Enterococcus faecalis</i>	TSA/37±1/24-48
HNCMB 35035	<i>Escherichia coli</i>	TSA/37±1/24
NCAIM B.01375	<i>Listeria innocua</i>	TSA/37±1/24-48
NCAIM B.01373	<i>Listeria monocytogenes</i>	TSA/37±1/24-48
NCAIM B.01361	<i>Micrococcus</i> sp.	TSA/30±1/24-48
T21	<i>Micrococcus luteus</i>	TSA/30±1/24-48
GY1	<i>Pantoea agglomerans</i>	TSA/30±1/24-48
HNCMB 61370	<i>Proteus mirabilis</i>	TSA/37±1/24-48
HNCMB 170006	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	TSA/30±1/24-48
HNCMB 10040	<i>Salmonella</i> Typhimurium	TSA/37±1/24-48
HNCMB 42021	<i>Salmonella</i> Arizonae	TSA/37±1/24-48
HNCMB 15016	<i>Salmonella</i> Typhi-suis	TSA/37±1/24-48
T28/IFS-09	<i>Salmonella</i> spp. 99.04. KV.	TSA/37±1/24-48
T29	<i>Sarcina</i> sp.	TSA/30±1/24-48
GY14	<i>Serratia marcescens</i>	TSA/30±1/24-48
HNCMB 112002	<i>Staphylococcus aureus</i>	TSA/37±1/24-48
HNCMB 110001	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	TSA/37±1/24-48
HNCMB 80200	<i>Streptococcus agalactiae</i>	TSA/37±1/24-48
KE 0062.86.03.26	<i>Candida (Yarrowia) lipolytica</i>	GYP/26±1/48
NCAIM Y.00971	<i>Candida albicans</i>	GYP/26±1/48
KE 162.86.05.07	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	GYP/26±1/48
NCAIM Y.00734	<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	GYP/30±1/48
NCAIM F.00741	<i>Alternaria</i> sp.	PDA/24±1/72-120
NCAIM F.00735	<i>Aspergillus niger</i>	PDA/24±1/72-120
T42	<i>Aspergillus oryzae</i>	PDA/26±1/72-120
NCAIM F.00167	<i>Aspergillus wentii</i>	PDA/26±1/72-120
NCAIM F.00728	<i>Fusarium oxysporum</i>	PDA/26±1/72-120
NCAIM F.00745	<i>Helminthosporium sativum</i>	PDA/26±1/72-120
NCAIM F.00598	<i>Mucor racemosus</i>	PDA/24±1/72-120
T50	<i>Penicillium camemberti</i>	PDA/26±1/72-120
T51	<i>Penicillium expansum</i>	PDA/26±1/72-120
NCAIM F.00654	<i>Rhizopus stolonifer</i>	PDA/26±1/72-120
T63	<i>Rhizopus nigrans</i>	PDA/26±1/72-120

### 3.3.2. Az inokulum elkészítése

A *Spirulina* biomassza antimikrobás hatásának tesztelésére használt inokulum 24 órás baktérium-tenyészetek felhasználásával 2 cm<sup>3</sup>-es, 0,85%-os NaCl-oldatot tartalmazó ampullákban (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, Franciaország) elkészített szuszpenzió volt. A baktérium-szuszpenzió sűrűségét 0,5 McFarland egységre állítottam be densitometer (Densimat; bioMérieux) segítségével. Ezt a szuszpenziót használtam fel a TSA agarlemezek közvetlen beoltására. Az élesztőgomba-inokulumokat a baktériumokéhoz hasonló módon készítettem el, de esetükben 1,0 McFarland egységet állítottam be. A szuszpenzió 1 cm<sup>3</sup>-ét 100 cm<sup>3</sup>-nyi ¼-erősségű Ringer oldatba tettem és jól átkevertem. Ezt a hígítást használtam a GYP agarlemezek közvetlen beoltására. A *Spirulina* fonalgombákra gyakorolt hatásának vizsgálata frissen átoltott lemezek felületéről Leifert és mtsai (1995) módszere alapján gyűjtött konídiumokból készített inokulummal történt. A konídium-szuszpenzió sűrűségét kb.  $1,0 \times 10^5$  konídium/cm<sup>3</sup>-re állítottam be. Ezt a szuszpenziót alkalmaztam a PDA agarlemezek közvetlen beoltására. A szuszpenzió sűrűsége a szokásoshoz képest kisebb volt, hogy megfeleljen a módszer követelményeinek.

### 3.3.3. A lemezek elkészítése

A folyékony GYP, TSA és PDA tápagart kb. 45°C-ra visszahűtöttem, és 0,5 cm<sup>3</sup> élesztőgomba-, baktérium-, illetve fonalgomba-szuszpenziót vagy hígítást tartalmazó Petri-csészékbe az agar 20±1 cm<sup>3</sup>-ével egyenletes rotáló mozgás mellett lemezeket öntöttem, majd az agart vízszintes helyen

hagytam megszilárdulni. Lyukteszt esetén dugófúró-csővel, steril körülmények között lemezenként 4 darab 10 mm átmérőjű lyukat vágtam az agarrétegbe, majd steril lándzsával eltávolítottam az agarkorongokat.

#### 3.3.4. A vizsgálatban alkalmazott *Spirulina* kivonatok

A *Spirulina*-por különböző módon kezelt vizes oldataiból azonos mennyiségeket (0,2 cm<sup>3</sup>) vittem be a lyukakba. Az alábbi kezeléseket alkalmaztam:

- A *Spirulina*-por 10-szeres hígításával készített vizes kivonat (**V**);
- A **V** 5000 rpm-en 59 percig tartó centrifugálásával nyert felülúszó (**C**);
- A **V**-nek ultrahangos homogenizáló készülékben (Dr. Lőrincz Attila fejlesztése, Mosonmagyaróvár, Magyarország) 130 W-on 60 mp-ig tartó roncsolása útján nyert extraktum (**S1**);
- Az **S1** 5000 rpm-en 59 percig történő centrifugálása után a felülúszó (**S1C**).

Az egyes mikroorganizmusok számára szükséges ideig és megfelelő hőmérsékleten történt inkubálás után tolómérő segítségével olvastam le a gátlási zónák méretét.

### **3.4. Mezofil tejsavbaktériumok és *Spirulina* biomassza felhasználásával készülő savanyú tejtermék kifejlesztése**

#### **3.4.1. A termékfejlesztés menete**

A termékfejlesztés szerves részét képezte három érzékszervi bírálat is. A rangsorolósos bírálatot az egyes érzékszervi tulajdonságok intenzitása szerint végeztük. A fő rangsorolási paraméter mindhárom esetben az összízbenyomás volt. E módszernél a minták azonossága nem annyira fontos, mint a többi különbségvizsgálati módszernél. A termékfejlesztés első lépéseként különböző cukortartalmú termékeket készítettem. Annak érdekében, hogy funkcionális tulajdonsággal ruházzam fel a mezofil tejsavbaktériumok felhasználásával készített tejterméket, továbbra is a 0,3%-nyi *Spirulina* biomassza-kiegészítést alkalmaztam. A *Spirulina* biomassza zöld színe miatt olyan aromaanyagot kerestem, amelynek az íze jól harmonizált a *Spirulina* erőteljes zöld színével. Végül a kivi és a szintén zöld színű eper-kivi ízesítés mellett döntöttem. Az aromaanyagokat (Esarom Essenzenfabrik GmbH, Oberrohrbach, Ausztria) 1,5%-os mennyiségben alkalmaztam.

Az első érzékszervi bírálat során azt vizsgáltam, hogy három különböző kultúra (CHN-22, XPL-01, továbbá *Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128 és a *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257 kevert tenyésztete, amelyet a továbbiakban LC néven tüntetek fel) alkalmazásával elkészített aludttej minták milyen íz és cukorkoncentráció mellett adják a legnagyobb élvezeti értéket. A három különböző kultúrával készült kivis ízesítésű alapanyagok három változatát készítettem el az alábbiak szerint: (i)

---

hozzáadott cukrot nem tartalmazó, (ii) 6% hozzáadott kristálycukrot tartalmazó és (iii) 12% hozzáadott kristálycukrot tartalmazó változat. Az így kapott 9 terméket kínáltam fel érzékszervi bírálatra 5 bírálónak.

A második érzékszervi bírálatra az első eredményei alapján finomítottam a receptúrát. Kivis, illetve epres-kivis ízű aromával egészítettem ki az első bírálat során legjobbnak bizonyult kultúrával készült alapanyagot és szűkebb tartományban változtattam a hozzáadott cukortartalmat (8%, 10%, 12%). Ebben az esetben 11 fő végezte a 6 termék bírálatát.

A harmadik érzékszervi bírálat arra adott választ, hogy a második vizsgálat során legjobbnak ítélt termék milyen íztulajdonságokkal rendelkezik 0%, 0,3%, illetve 0,6% Spirulina-kiegészítés mellett. Ennél a vizsgálatnál 12 fő minősítette a 3 terméket.

#### *3.4.2. Az érzékszervi bírálat menete és kiértékelése*

A mintákat véletlenszerűen sorba rendeztem, majd kódszámokkal láttam el, és így kínáltam fel bírálatra. A bírálat lényegében abból állt, hogy a bírálók a bírálati lapon érzékszervi megállapításaik alapján helyezési számot rendeltek a kódszámokhoz. A rangsoroláskor először durva, majd finom rangsorolást végeztek.

Az eredményeket Kramer (1960) rangsorolós módszerével értékeltem ki. A módszer jól alkalmazható gyártmányfejlesztésnél, mert gyors és egyszerű, nem igényel bírálati előírást, illetve sokszor etalont sem, és kevésbé képzett érzékszervi bíráló személyek is végezhetik. A módszer lényege, hogy a bírálóbizottság eredményét összesítve megkapjuk a helyezési számok összege szerinti rangsort, amelyből látható, hogy melyik termék a kedveltebb, illetve melyik a kevésbé elfogadott. A módszer matematikai-

statisztikai alapokon nyugszik, ezért a minták közötti szignifikáns különbségek megállapítására is alkalmas. A kiértékelés során a teljes bírálóbizottság összesített eredményét használtam fel a helyes rangsor becslésére.

### ***3.5. Spirulina biomassza hatása a mezofil tejsavbaktériumokra a késztermék tárolása során***

#### ***3.5.1. Alapanyag és starterkultúra***

Az alapanyagul használt, Delvotest<sup>®</sup> SP MINI készülékkel (Gist-Brocades) ellenőrzött antibiotikum-mentes nyerstej (3 dm<sup>3</sup>) literenként 36,5 g zsírt, 31,5 g fehérjét 47 g laktózt és 7 g hamut tartalmazott. A tejet felhasználás előtt 90°C±1-on 10 percig hőkezelttem, és miután a hőmérséklete 70°C alá csökkent, fele mennyiségében (1,5 dm<sup>3</sup>) csomómentesen elkeverttem 4,5 g Spirulina port. Az alapanyag-tételeket (2 × 1,5 dm<sup>3</sup>) ezután 18 MPa (180 bar) nyomáson, 70±2°C-os hőmérsékleten homogéneztem egy 250 dm<sup>3</sup>/h kapacitású dugattyús homogénező berendezéssel (Rannie, Koppenhága, Dánia) a Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet mosonmagyaróvári próba üzemében, majd visszahűtöttem őket az inokulálás hőmérsékletére.

A savanyú tejtermék készítéséhez az érzékszervi vizsgálaton legjobb minősítést elért termék starterkultúráját alkalmaztam. Microbank gyöngyből MRS-L levesben felélesztett, majd 24±3 óra múlva 100 cm<sup>3</sup> UHT tejbe áttöltött és felszaporított tenyészeteket használtam fel az inokuláláshoz.

### 3.5.2. Termékgyártás és -tárolás

Az UHT tejben felszaporított starterkultúrákat a gyakorlatban is alkalmazott 1%-nyi (v/v) mennyiségben hozzáadtam az inokulálás hőmérsékletére visszahűtött, hőkezelt és homogénezett tejhez. Az inkubáció kb. 10 órán át tartott  $30\pm 1^\circ\text{C}$  hőmérsékletre beállított vízfürdőben, majd a kontroll, ill. a Spirulinával kiegészített savanyú termékhez is hozzáadtam 10% szacharózt és 1,5% aromaanyagot. A termékeket a cukor oldódásáig habartam, majd  $2 \times 21$  db steril, csavaros kupakkal zárható centrifugacsőbe ( $30\text{ cm}^3$ ) töltöttem. A csöveket 6 héten keresztül hűtőszekrényben tároltam  $4\pm 2^\circ\text{C}$ -on. Hetente 3 db kontroll és 3 db Spirulina-tartalmú mintát vizsgáltam meg. A kísérletet 2 ismétlésben hajtottam végre.

### 3.5.3. Mikrobiológiai vizsgálatok

A gyártást követően 0, 7, 14, 21, 28, 35 és 42 nap elteltével – steril körülmények között – mintát vettem a centrifugacsövekből, és  $10\text{ cm}^3$  terméket  $90\text{ cm}^3$  steril hígító vízben felhígítottam, majd a szükséges mértékig elkészítettem a további hígítási tagokat. A mezofil tejsavbaktériumok telepszámlálását az MSZ ISO 15214 (2005) jelű magyar szabvány előírásai szerint végeztem. A szabvány javaslatára az MRS táptalaj helyett M17 táptalajt alkalmaztam a lemezöntéses technika során. A táptalaj pH-ja  $6,9\pm 0,1$  volt. A lemezeket  $30\pm 1^\circ\text{C}$ -on  $72\pm 3$  órán át inkubáltam. Megerősítés céljából, lemezenként 5-5 telepet Gram-festésnek és kataláz-próbának vettem alá. Minden egyes mintának megmértem a pH-ját is.

### **3.6. A kiértékelésben alkalmazott matematikai-statisztikai módszerek**

Az eredmények statisztikai értékelését az egy-, illetve kéttényezős varianciaanalízis segítségével végeztem el, az általános lineáris modellt alkalmazva. A varianciák azonosságának (homogenitásának) vizsgálatát Levene-próbával ellenőriztem. A varianciaanalízis során meghatároztam a négyzetösszeg (SS), a szabadságfok (df), a szórásnégyzet ( $S^2$ ), a számított F-érték (F) és a szabadságfokok alapján meghatározott F-érték (Fkrit) adatokat (Kemény és Deák, 2002).

Az átlagértékek közötti szignifikáns különbséget ( $LSD_{95\%}$ ) Duncan-féle post-hoc módszerrel (Duncan, 1975) határoztam meg, 5% elsőfajú hiba mellett, amelynek előnye a független változókra alkalmazható *t*-próbával szemben, hogy a vett minták számát is figyelembe veszi.

A normális eloszlás biztosítása érdekében a sejtszámok logaritmusával végeztem az összehasonlító vizsgálatokat (Reichart, 2005).

A kísérlet adatainak statisztikai feldolgozását és az eredmények ábrázolását Microsoft® Excel 2003 (Microsoft Magyarország Kft., Budapest, Magyarország), Microsoft® MicroCal Origin 3.0 (MicroCal Software, Inc., Northampton, MA, USA), illetve Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA) szoftverek segítségével végeztem el.



## 4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

### 4.1. A *Spirulina* biomassza mikrobiológiai állapota

A későbbi kísérletekben felhasznált porított *Spirulina* biomassza mikrobiológiai állapotának vizsgálata során a **9. táblázat**ban látható eredményeket kaptam.

**9. táblázat:** A megvizsgált *Spirulina* biomassza mikrobiológiai állapota

#	Összcsíraszám (CFU/g)	Élesztő/ Penész (CFU/g)	<i>Salmonella</i> spp. (25 g-ban)	<i>Enterobacteriaceae</i> (CFU/g)	<i>Escherichia coli</i> (CFU/g)	<i>Staphylococcus aureus</i> (CFU/g)
1.	$6,4 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1 / 1,0 \times 10^1$	Negatív	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$
2.	$5,1 \times 10^4$	$< 1,0 \times 10^1 / 4,0 \times 10^1$	Negatív	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$
3.	$7,6 \times 10^4$	$< 1,0 \times 10^1 / < 1,0 \times 10^1$	Negatív	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$
4.	$1,2 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^1 / < 1,0 \times 10^1$	Negatív	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$
5.	$5,4 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^1 / < 1,0 \times 10^1$	Negatív	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$
6.	$1,7 \times 10^3$	$< 1,0 \times 10^1 / 4,0 \times 10^1$	Negatív	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$
7.	$2,8 \times 10^3$	$< 1,0 \times 10^1 / 6,0 \times 10^1$	Negatív	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$

A **9. táblázat** a *Spirulina* biomassza jó, de mégsem teljesen kifogástalan higiéniai minőségéről tanúskodik. Ugyan egyetlen megvizsgált minta sem tartalmazott *Enterobacteriaceae* családba tartozó organizmusokat, vagy *Staphylococcus (S.) aureus*-t, viszont az összcsíraszám két esetben is megközelítette a European Pharmacopoeia ajánlása szerinti  $10^5$  CFU/g határértéket (Kneifel *et al.*, 2002). A megvizsgált *Spirulina* biomassza-minták penész-száma kicsinek mutatkozott.

A biomassza esetenkénti nagy összcsíraszama a nyitott rendszerű, szabadtéri medencés tenyésztés sajátjaiból adódhatott. A kisszámú minta alapján nem lehet messzemenő következtetéseket levonni, de az megállapítható, hogy vizsgálati eredményeim alátámasztják a Jassby (1988) által tapasztaltakat. Felmérése során több száz, Japánban, Thaiföldön, Tajvanon és Mexikóban lévő modern kereskedelmi farmról érkezett Spirulina-mintát vizsgált meg, és megállapította, hogy kóliformok ritkán fordulnak elő a mintákban.

A mikroszkópos vizsgálatok során a 6. sorszámú minta esetében kovaalgák jelenléte volt megfigyelhető. Egyéb idegen anyag jelenlétét vizuálisan nem észleltem.

Összefoglalóan megállapítható, hogy a vizsgált minták megfeleltek az előírásoknak. A Spirulina biomassza élelmiszer-adalékanyagként történő felhasználása során ügyelni kell a por megfelelő mikrobiológiai állapotára, még akkor is, ha kis koncentrációban történik az alkalmazása, és a tejsavbaktériumok kezdeti nagy csíraszama, ill. tejsavtermelése gátló hatást gyakorol a számunkra kedvezőtlen mikroorganizmusokra.

A biomassza végső mikrobiológiai állapota attól függ, hogy milyen körülmények között kezelik a tenyészetet és a terméket a termelés különböző fázisaiban. Csak a Jó Termesztési Gyakorlattal (GMP-vel) és a mikrobióta tételenkénti közvetlen vizsgálatával lehet garantálni a termék biztonságos voltát.

#### 4.2. A mezofil tejsavbaktériumok savtermelésének és sejtszám-változásának nyomon követése tej közegben

##### 4.2.1. Az optimális biomassa-koncentráció meghatározása

*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Ha-2 és *Lc. lactis* subsp. *cremoris* W-24 törzs felhasználásával meghatároztam, hogy mekkora a savtermelés-serkentés szempontjából már hatékony *Spirulina* biomassa-koncentráció. Az eredményeket az **10.** és **11. táblázat** szemlélteti.

**10. táblázat:** Különböző koncentrációkban adagolt *Spirulina* biomassa hatása tejben szaporított *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Ha-2 törzs által termelt szerves sav hatására bekövetkező pH változásra‡

Idő (óra)	0%	0,1%	0,3%	0,5%	0,8%
	Spirulina biomassa				
0	6,64	6,64	6,65	6,67	6,63
2	6,61	6,61	6,63	6,65	6,54
4	6,49	6,45	6,46	6,47	6,43
6	6,30	6,18*	6,19*	6,18*	6,16*
8	5,82	5,59*	5,58*	5,58*	5,68*
10	5,34	5,05*	5,01*	5,04*	5,13*
12	4,88	4,63*	4,61*	4,65*	4,76*
14	4,58	4,48	4,48	4,49	4,59
24	4,33	4,28	4,23	4,31	4,37

‡ A táblázatban szereplő számok pH-értékeket jelölnek

\* Kontrollhoz viszonyított szignifikáns pH-különbség  $P = 0,05$  szinten ( $n = 6$ )

**11. táblázat:** Különböző koncentrációkban adagolt *Spirulina* biomassza hatása tejben szaporított *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* W-24 törzs által termelt szerves sav hatására bekövetkező pH változásra‡

Idő (óra)	0%	0,1%	0,3%	0,5%	0,8%
	Spirulina biomassza				
0	6,63	6,65	6,66	6,69	6,54
2	6,61	6,62	6,63	6,68	6,54
4	6,47	6,46	6,44	6,49	6,40
6	6,22	6,16	6,10*	6,13*	6,08*
8	5,70	5,56*	5,48*	5,56*	5,58*
10	5,09	4,88*	4,83*	4,91*	4,94*
12	4,61	4,50*	4,48*	4,55*	4,59*
14	4,44	4,41	4,41	4,44	4,49
24	4,25	4,22	4,22	4,26	4,29

‡ A táblázatban szereplő számok pH-értékeket jelölnek

\* Kontrollhoz viszonyított szignifikáns pH-különbség  $P = 0,05$  szinten ( $n = 6$ )

Látható, hogy a *Spirulina* biomassza a *Lactococcus*-törzsek szignifikáns mértékű ( $P < 0,05$ ) savtermelés-serkentését idézte elő a fermentáció 6. és 12. órája között. E tekintetben a 0,8%-nyi biomassza adagolása nem járt előnnyel a 0,1%-nyihoz képest. A 0,3%-os és a 0,5%-os koncentráció közötti választásomat ökonómiai megfontolás valamint a *Spirulina* érzékszervi hatása befolyásolta. A további kísérleteket 0,3%-nyi ( $3 \text{ g/dm}^3$ ) *Spirulina* biomassza adagolással folytattam, Springer és mtsai (1998) közlésével összhangban. Beszámolójuk szerint ez a *Spirulina*-koncentráció már hatékony, még jó érzékszervi tulajdonságot kölcsönöz a terméknek és elfogadható mértékű önköltségi ár-növekedést eredményez.

#### 4.2.2. Hőkezelés hatása a *Spirulina* biomasszára

A *Spirulina* biomasszával dúsított tej hőkezelése után megállapítható volt, hogy a *Spirulina* színanyagai érzékenyek a  $90 \pm 1^\circ\text{C}$ -on 10 percig tartó hőhatásra, mert az eredetileg halványzöld színárnyalat zöldes-barnás lett. A

hőkezelt *Spirulina* biomassza laktokokkuszkok savtermelésére gyakorolt hatását a **12. táblázat** szemlélteti.

**12. táblázat:** Hőkezelt, illetve hőkezeletlen *Spirulina* biomassza hatása *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* W-24 törzs által termelt szerves sav hatására bekövetkező pH változásra‡

Idő (óra)	Kontroll	0,3%-nyi hőkezeletlen <i>Spirulina</i>	0,3%-nyi hőkezelt <i>Spirulina</i>
0	6,63	6,66	6,67
2	6,61	6,63	6,64
4	6,47	6,44	6,46
6	6,22	6,10*	6,13*
8	5,70	5,48*	5,49*
10	5,09	4,83*	4,84*
12	4,61	4,48*	4,50*
14	4,44	4,41	4,43
24	4,25	4,22	4,23

‡ A táblázatban szereplő számok pH-értékeket jelölnek

\* Kontrollhoz viszonyított szignifikáns pH-különbség  $P = 0,05$  szinten ( $n = 6$ )

A **12. táblázat** adataiból kitűnik, hogy a hőkezeletlen és a hőkezelt *Spirulina* biomassza egyaránt szignifikáns mértékű ( $P < 0,05$ ) savtermelés-serkentést okozott a vizsgált *Lactococcus* törzs esetében, a fermentációs folyamat 6. és 12. órája között. A hőbehatás tehát nem eredményezett szignifikáns javulást vagy romlást a *Spirulina* biomassza mezofil tejsavbaktériumokra gyakorolt aktivitásában. Minthogy azonban a hőkezelés által előidézett színváltozás túlzott mértékű volt, a továbbiakban eltekintettem ettől a technológiai megoldástól.

#### 4.2.3. Az vizsgált törzsek savtermelésére gyakorolt hatás

3 g/dm<sup>3</sup>-nyi *Spirulina*-kiegészítést alkalmazva, 2-2 db *Lc. lactis* subsp. *lactis*-, ill. *Lc. lactis* subsp. *cremoris*-, 4 db *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*- és 1-1 db *Ln. mesenteroides* subsp. *cremoris*-, ill. *Ln.*

## Eredmények és értékelésük

*mesenteroides* subsp. *dextranicum*-törzs felhasználásával végeztem el az inkubálásokat, valamint a kétóránkénti pH-méréseket. A kapott eredményeket a **13. táblázat** szemlélteti. Negatív számok esetében a kezelt minták pH-értéke nagyobb, míg pozitív számok esetében kisebb volt, mint a megfelelő kontroll mintáké.

**13. táblázat:** 0,3%-nyi Spirulina biomassza hatása a vizsgált törzsek savtermelésére tejben

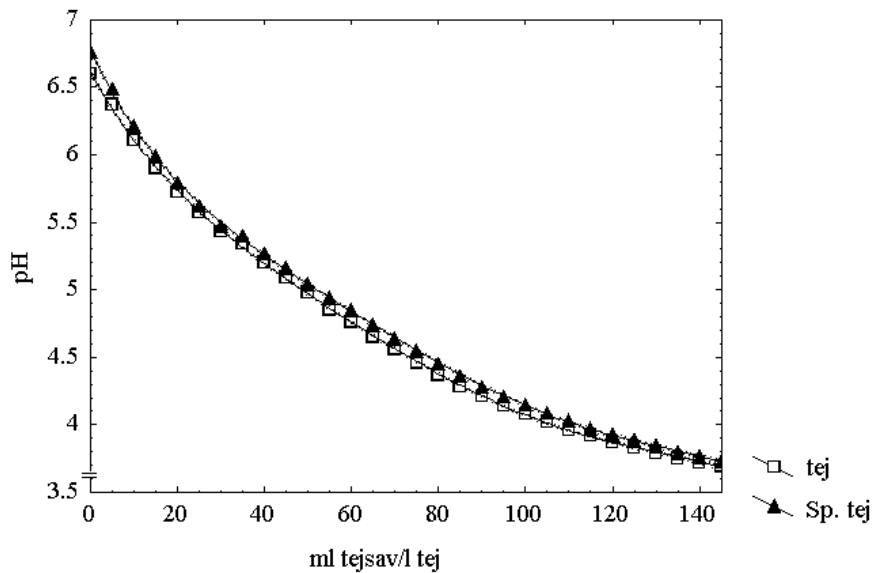
Törzs (NCAIM)	Kontrollhoz viszonyított átlagos pH-különbség a fermentáció során							
	0. óra	2. óra	4. óra	6. óra	8. óra	10. óra	12. óra	14. óra
B.2125	-0,07	-0,07	-0,17	-0,16	-0,10	-0,02	0,00	0,00
B.2128	-0,05	-0,04	+0,03	+0,25*	+0,38*	+0,22*	+0,16*	+0,14*
B.2122	-0,05	-0,04	+0,02	+0,10	+0,26	+0,43	+0,50	+0,51
B.2123	-0,06	-0,06	-0,06	+0,01	+0,08*	+0,03	+0,03	+0,01
B.2126	-0,06	-0,07	-0,10*	-0,14	+0,01	+0,03	+0,03	+0,03*
B.2127	-0,04*	-0,03*	-0,02*	+0,22*	+0,54*	+0,61*	+0,51*	+0,58*
B.2124	-0,06*	-0,03	+0,04*	+0,14*	+0,30*	+0,19*	+0,18*	+0,14*
ATCC 19257	-0,05*	+0,03*	+0,12*	+0,56*	+0,59*	+0,14*	+0,04*	+0,06*
B.2120	-0,07	-0,04	0,00	+0,12*	+0,53*	+0,86*	+0,92*	+0,90*
B.1658	-0,05*	-0,05*	-0,07*	-0,03	+0,09	+0,10*	+0,09*	+0,10*

-: A kontroll minta pH-jához képest nagyobb a kezelt minta pH-értéke

+: A kontroll minta pH-jához képest kisebb a kezelt minta pH-értéke

\* Kontrollhoz viszonyított szignifikáns pH-különbség  $P = 0,05$  szinten ( $n = 6$ )

A cianobaktérium biomasszával dúsított minták kezdeti pH-értékének átlaga nagyobb volt, mint a kontrolloké, mert a Spirulina lúgos karakterű anyag ( $3 \text{ g/dm}^3$  *A. platensis* biomassza vizes oldatának pH-ja 9,9), és némi pufferkapacitással is rendelkezik (**8. ábra**).



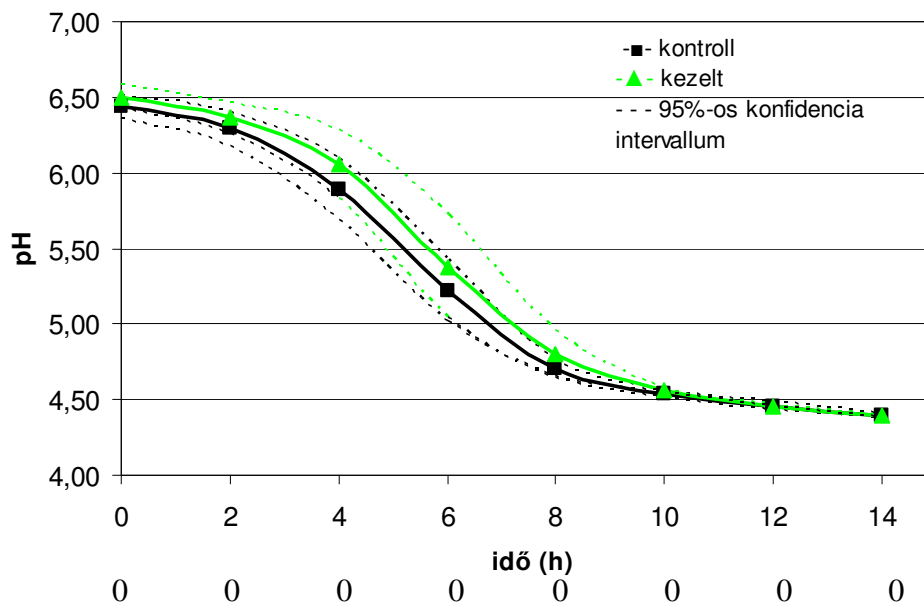
**8. ábra:** A tej (□) és a 0,3%-nyi Spirulina biomasszával kiegészített tej (▲) pufferkapacitása

A **9.-18. ábrán** a tejhez  $3 \text{ g/dm}^3$  mennyiségben hozzáadott Spirulina biomasszának a vizsgált *Lactococcus*- és *Leuconostoc*-törzsek fermentáció alatti savtermelésére gyakorolt hatása látható. Az abszcissa-felirat alatti jelek a kontroll és a kezelt minták pH-különbségeinek szignifikáns voltát jelölik az alábbiak szerint: -, a Spirulina-tartalmú termék pH-ja szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) nagyobb; +, a Spirulina-tartalmú termék pH-ja szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) kisebb; 0, nincs szignifikáns különbség ( $P > 0,05$ ) a pH-értékek között.

A **9. és 10. ábra** a Spirulina biomassza által a két *Lc. lactis* subsp. *lactis* törzs savtermelésére gyakorolt hatást szemlélteti a 14 órás fermentációs idő alatt. A beoltás után a tejben megindul a baktériumok szaporodása. A számuk egy ideig nem változik (lappangási szakasz). Ekkor nincs, vagy csak kismértékű a tejsavtermelés, így a közeg pH-ja is változatlan. Bizonyos idő elteltével azonban gyors szaporodásnak indulnak a baktériumok

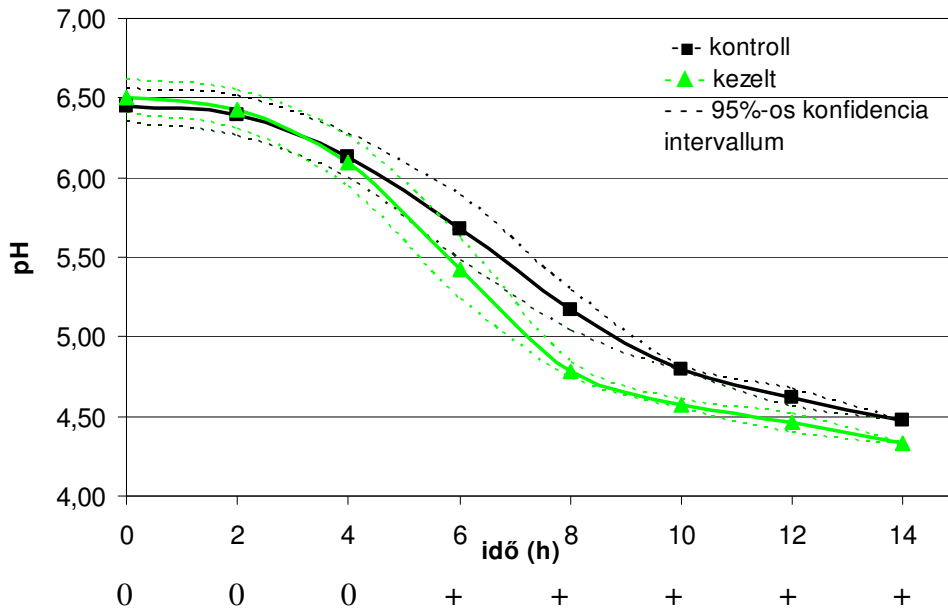
## Eredmények és értékelésük

(exponenciális szakasz). Elkezdődik az intenzív tejcukorbontás, ezt a pH csökkenése mutatja. A tej 4,7 körüli pH-n megalszik. Az exponenciális szakasz végét a savtermelés intenzitásának csökkenése jelzi. A tejsavbaktérium-tenyészetek aktivitása az exponenciális szakasz végén, illetve a következő (stacioner) szakasz elején a legnagyobb.



**9. ábra:** *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2125 által képzett szerves sav hatására bekövetkezett pH-változás kontroll és 0,3%-nyi Spirulina biomasszát tartalmazó kezelt minták esetében (n = 6)

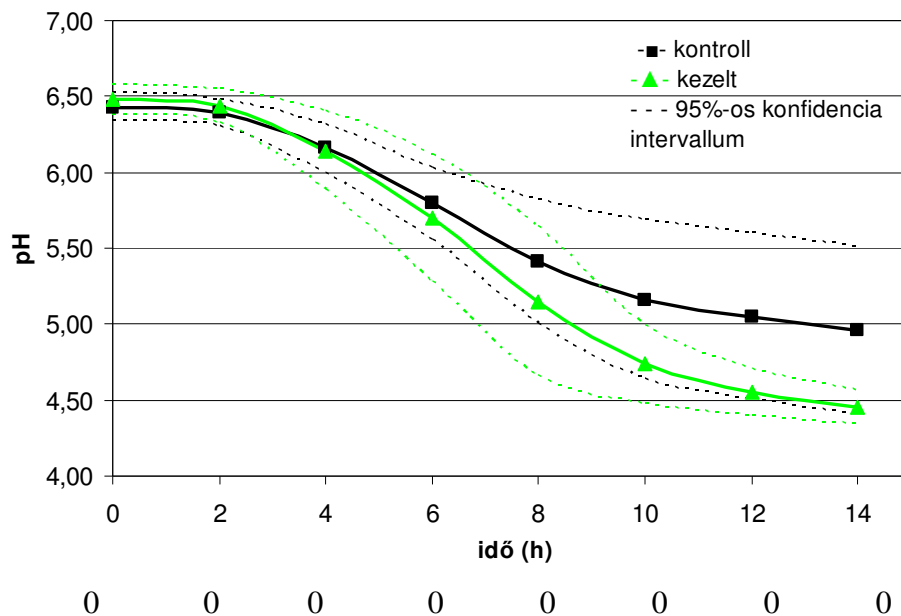




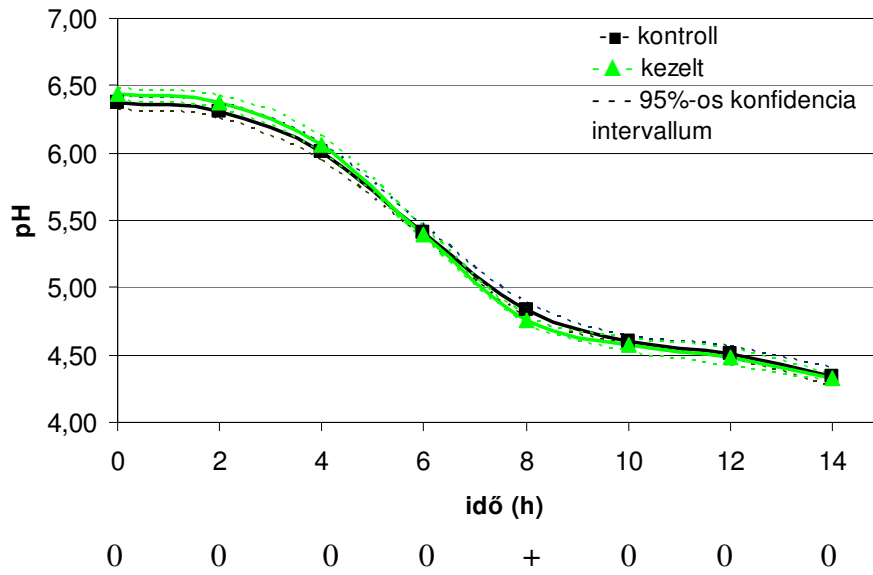
**10. ábra:** *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128 által képzett szerves sav hatására bekövetkezett pH-változás kontroll és 0,3%-nyi Spirulina biomasszát tartalmazó kezelt minták esetében (n = 6)

A **9. ábrán** látható, hogy a Spirulina biomasszával történő dúsításnak nem volt hatása a *Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2125 törzs savtermelésére, a **10. ábra** alapján pedig elmondható, hogy a fermentáció 6. órájától kezdődően a cianobaktérium biomasszájának köszönhetően szignifikáns mértékben nőtt ( $P < 0,05$ ) a *Lc. lactis* subsp. *lactis* B.2128 törzs savtermelése.

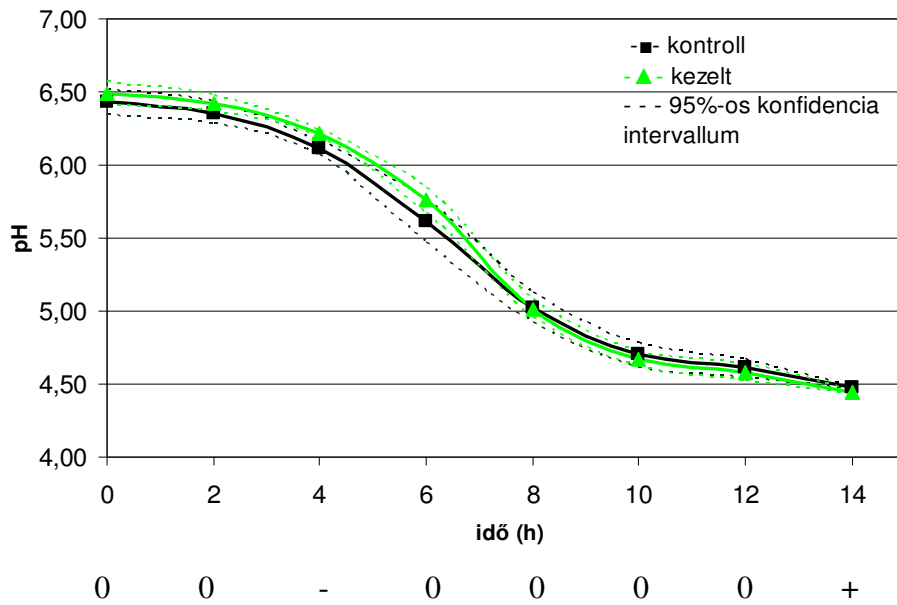
A **11.-14. ábrán** a Spirulina biomassza *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* törzsek savtermelésére gyakorolt hatása követhető nyomon.



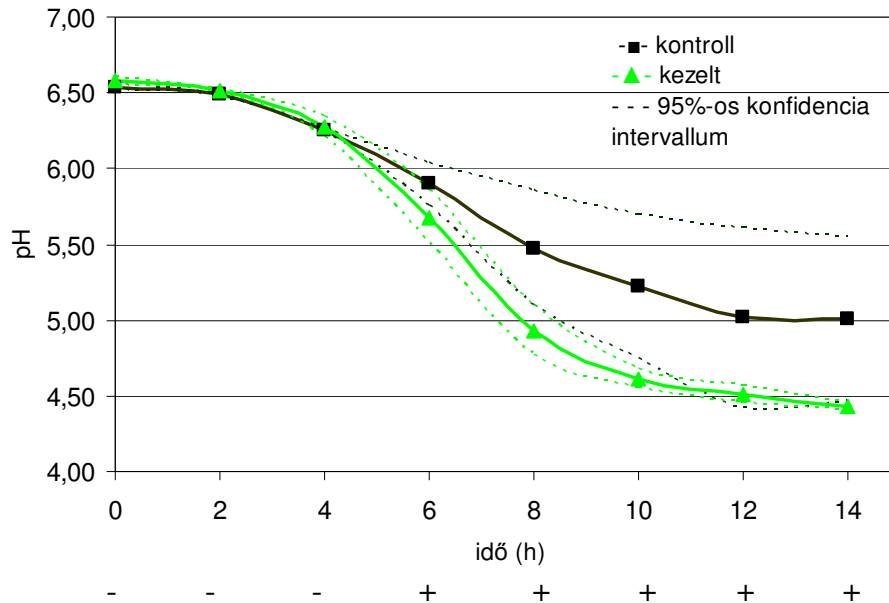
**11. ábra:** *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* NCAIM B.2122 által képzett szerves sav hatására bekövetkezett pH-változás kontroll és 0,3%-nyi Spirulina biomasszát tartalmazó kezelt minták esetében (n = 6)



**12. ábra:** *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* NCAIM B.2123 által képzett szerves sav hatására bekövetkezett pH-változás kontroll és 0,3%-nyi Spirulina biomasszát tartalmazó kezelt minták esetében (n = 6)



**13. ábra:** *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* NCAIM B.2126 által képzett szerves sav hatására bekövetkezett pH-változás kontroll és 0,3%-nyi Spirulina biomasszát tartalmazó kezelt minták esetében (n = 6)

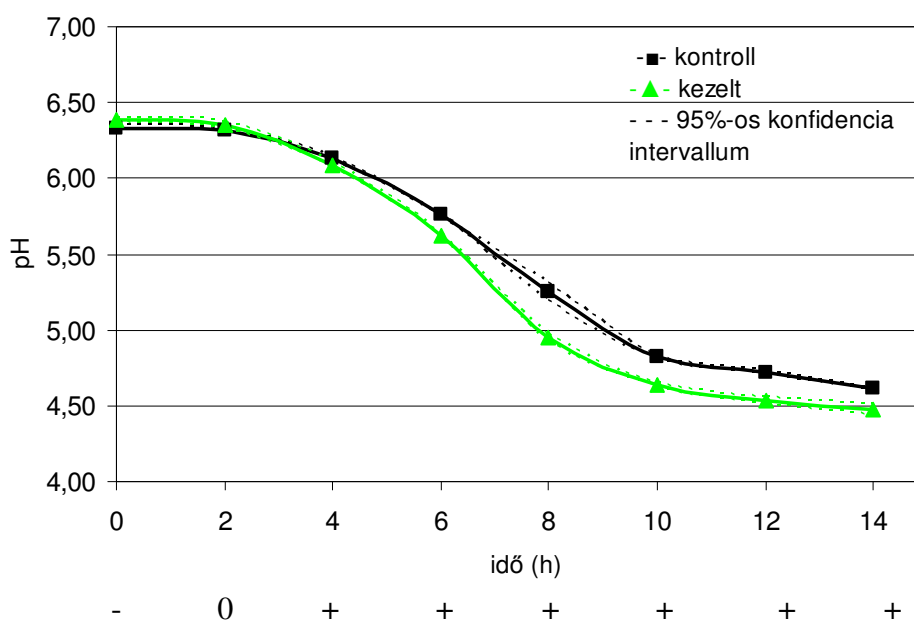


**14. ábra:** *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* NCAIM B.2127 által képzett szerves sav hatására bekövetkezett pH-változás kontroll és 0,3%-nyi Spirulina biomasszát tartalmazó kezelt minták esetében (n = 6)

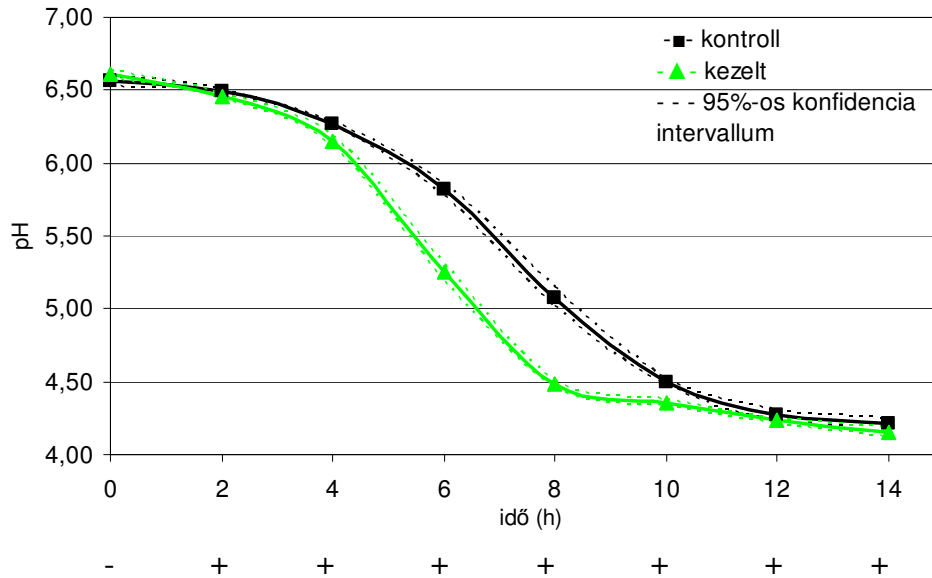
Összesen négy különböző *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* törzset vizsgáltam meg. A B.2122 jelű törzs (**11. ábra**) esetében első látásra egyértelműnek tűnt a cianobaktérium biomassza stimuláló hatása, de a párhuzamos minták eredményeinek nagy szórása miatt a serkentés végül nem bizonyult szignifikánsnak ( $P > 0,05$ ). A B.2123 törzs (**12. ábra**) esetében csak a 8. órában tudtam szignifikáns különbséget kimutatni a kezelt és a kontroll minták között. A **13. ábrán** látható, hogy a Spirulina biomassza adagolásának hatására a 4. órában szignifikánsan nőtt, a 14. órában pedig szignifikánsan csökkent a B.2126 törzs savtermelése. A legjobb eredményeket a B.2127 törzs esetében kaptam (**14. ábra**). A Spirulina-por adagolása a fermentáció 4. óráját követően serkentette a B.2127 törzs

savtermelését. A pH-átlagok közötti különbségek a 6. órától kezdve minden egyes vizsgálati időpontban szignifikánsak voltak ( $P < 0,05$ ).

A **15.** és a **16. ábra** a *Spirulina* biomasszának két *Lc. lactis* subsp. *cremoris* törzs savtermelésére gyakorolt hatását szemlélteti. A **15. ábrán** egyértelműen látszik, hogy a cianobaktérium-adagolás hatására a 4. órától kezdődően szignifikánsan nagyobb ( $P < 0,05$ ) volt B.2124 jelű törzs savtermelése. Hasonló tendenciát, és még nagyobb mértékű savtermelés-serkentést figyelhetünk meg a **16. ábrán** az ATCC 19257 jelű *Lc. lactis* subsp. *cremoris* törzs vonatkozásában.

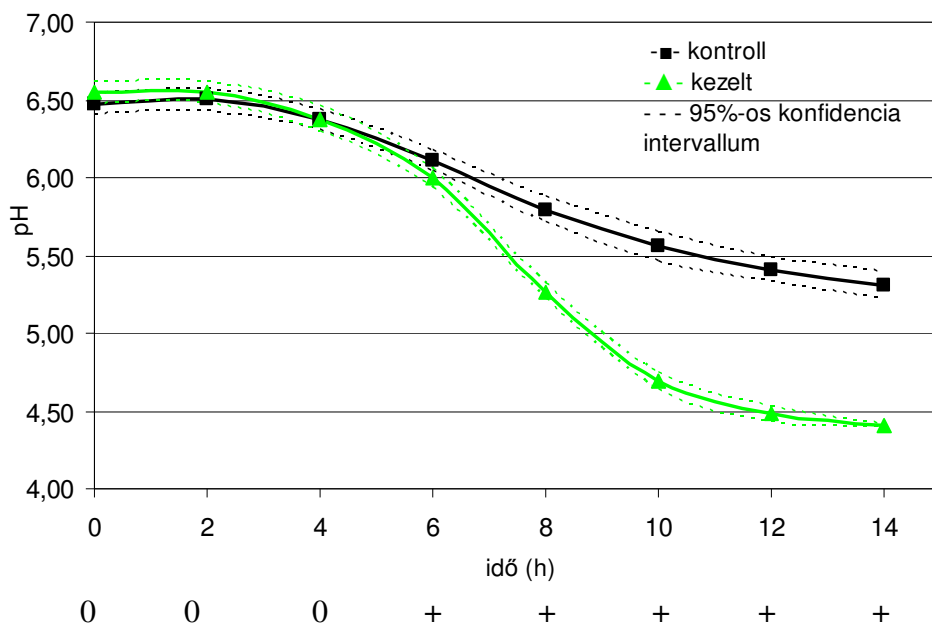


**15. ábra:** *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* NCAIM B.2124 által képzett szerves sav hatására bekövetkezett pH-változás kontroll és 0,3%-nyi *Spirulina* biomasszát tartalmazó kezelt minták esetében (n = 6)



**16. ábra:** *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257 által képzett szerves sav hatására bekövetkezett pH-változás kontroll és 0,3%-nyi Spirulina biomasszát tartalmazó kezelt minták esetében (n = 6)

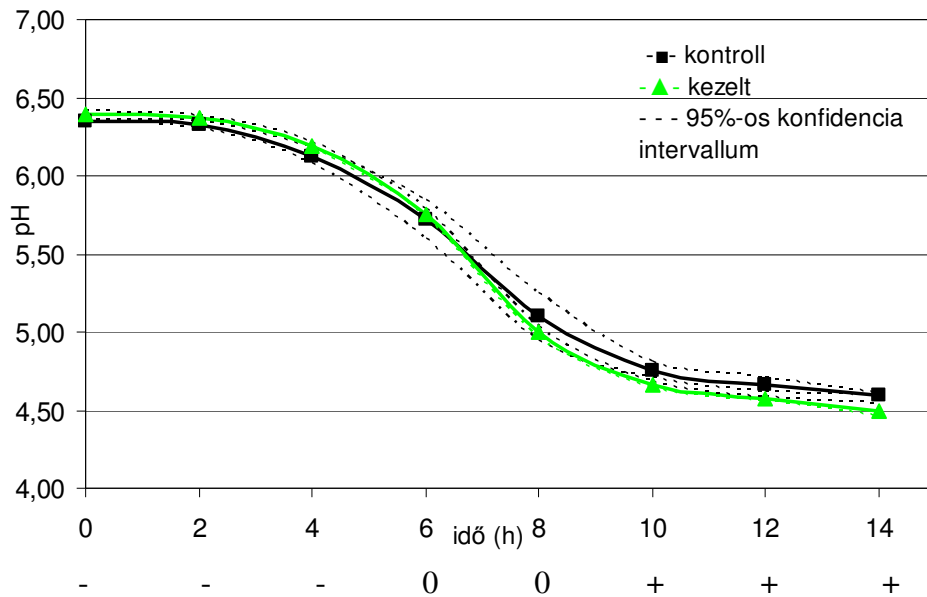
A Spirulina biomassza által *Ln. mesenteroides* subsp. *cremoris* NCAIM B.2120 savtermelésére gyakorolt hatást a **17. ábra** illusztrálja. A cianobaktérium adagolás a fermentáció 6. órájától kezdve serkentőleg hatott ( $P < 0,05$ ) a B.2120 törzs savtermelésére, közel 1 egységnyi pH különbséget okozva a kezelt és a kezeletlen minták átlagértékei között.



**17. ábra:** *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* NCAIM B.2120 által képzett szerves sav hatására bekövetkezett pH-változás kontroll és 0,3%-nyi Spirulina biomasszát tartalmazó kezelt minták esetében (n = 6)

A **18. ábra** a Spirulina biomasszának *Ln. mesenteroides* subsp. *dextranicum* NCAIM B.1658 törzs tejsav-termelésére gyakorolt hatását szemlélteti.





**18. ábra:** *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* B.1658 által képzett szerves sav hatására bekövetkezett pH-változás kontroll és 0,3%-nyi *Spirulina* biomasszát tartalmazó kezelt minták esetében (n = 6)

Jóllehet a cianobaktérium biomassza adagolásának hatására egyes vizsgálati időpontokban szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) csökkent, ill. nőtt a B.1658 törzs savtermelése, a mért pH-különbségek gyakorlati szempontból mégis elhanyagolhatóak voltak (**18. ábra**).

Összefoglalásképpen elmondható, hogy a  $3 \text{ g/dm}^3$ -es mennyiségben alkalmazott *Spirulina* biomassza – a fermentáció 6. és 12. órája között – szignifikáns mértékben ( $P < 0,05$ ) serkentette a *Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128, a *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetyllactis* NCAIM B.2127, a *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257, a *Lc. lactis* subsp. *cremoris* NCAIM B.2124 és a *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* NCAIM

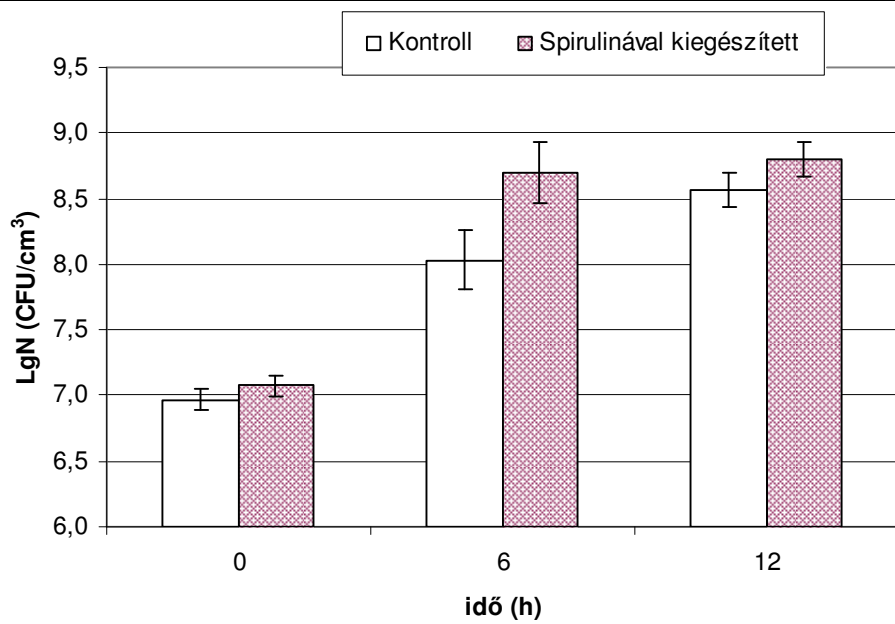
B.2120 törzsek savtermelését. Eredményeink összhangban vannak a korábbi vizsgálataink során tapasztaltakkal (Gyenis *et al.*, 2005; Molnár *et al.*, 2005).

#### 4.2.4. A kiválasztott *Lactococcus* törzsek sejtszámainak változása *Spirulina* biomassza-adagolás hatására

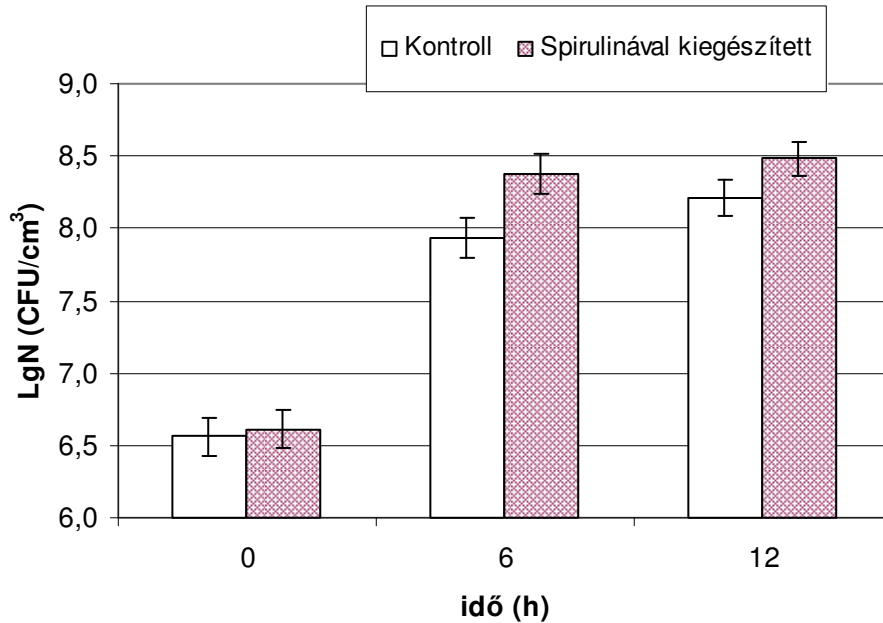
Élősejt-szám meghatározást csak laktokokkuszokra vonatkozóan végeztem, mert a *Leuconostoc*-törzseket a vajkultúrában leginkább aromaképzésük miatt használják, a savtermelésben játszott szerepük csekély. A 4.2.3. alfejezetben leírt kísérleti eredmények alapján azokat a *Lactococcus* törzseket választottam ki, amelyek savtermelését a *Spirulina* biomassza adagolása szignifikánsan és legnagyobb mértékben serkentette. A sejtszám-meghatározást az alábbi három törzs esetében végeztem el 0,3%-os *Spirulina* biomassza adagolásával:

- *Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128,
- *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* NCAIM B.2127,
- *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257.

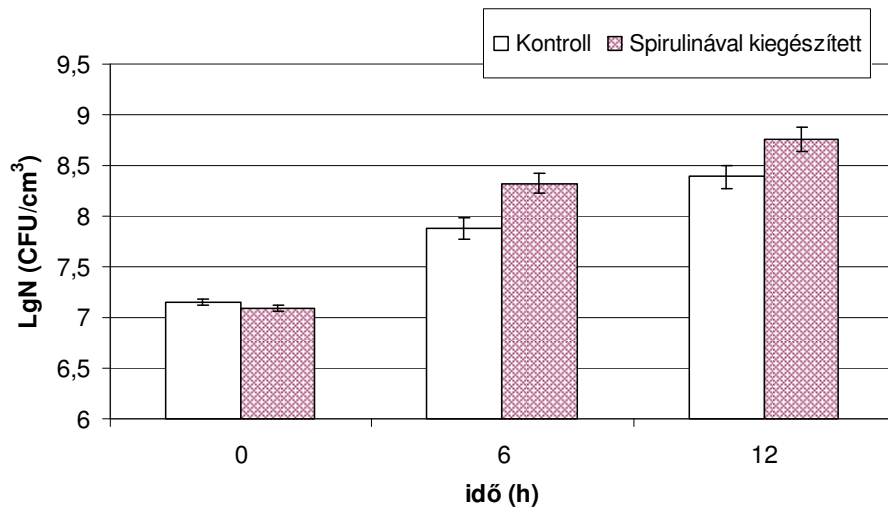
A **19.-21. ábrán** látható az egyes *Lactococcus*-törzsek élősejt-számának alakulása a kontroll, ill. a 3 g/dm<sup>3</sup>-nyi *Spirulina* biomassza-kiegészítést tartalmazó minták esetében.



**19. ábra:** *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128 sejtszámainak alakulása és az átlagértékek 95%-os konfidencia-intervalluma (n = 6)



**20. ábra:** *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* NCAIM B.2127 sejtszámainak alakulása és az átlagértékek 95%-os konfidencia-intervalluma (n = 6)



**21. ábra:** *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257 sejtszámainak alakulása és az átlagértékek 95%-os konfidencia-intervalluma ( $n = 6$ )

A kapott eredmények összhangban vannak a savtermelésnél tapasztaltakkal, ugyanis a Spirulina-adagolás mindhárom törzs esetében szignifikáns mértékű ( $P < 0,05$ ) sejtszám-növekedést idézett elő a fermentáció 6. órájára; sőt a B.2127 és az ATCC 19257 törzs esetében a 12. órában is szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) különböztek az élősejt-számok.

Elenyésző azoknak a publikációknak a száma, amelyek Spirulina biomassza laktokokkuszkokra vagy leukonosztokokra gyakorolt hatását írják le. Eredményeim azonban összhangban vannak Parada és mtsai (1998) megállapításával, miszerint a késői exponenciális szakaszban lévő *S. platensis* kultúra szűrlete szignifikánsan növeli a *Lc. lactis* subsp. *lactis*, a *Lb. acidophilus*, a *Lb. casei*, a *Sc. thermophilus* és a *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* törzseinek sejtszámát. Vizsgálataik szerint a szűrlet 5 óra után 66%-kal, 8 óra után 81%-kal növelte a *Lc. lactis* subsp. *lactis* 660 nm-en mért optikai denzitását a szűrlet nélkül tenyésztett kontroll törzsekhez viszonyítva. Egyetértenek De Caire és mtsai (1997) megállapításával, mely szerint a

---

Spirulina tenyésztése során a tejsavbaktériumokra gyakorolt serkentő hatásért felelős exopoliszacharidokat és egyéb bioaktív összetevőket termel.

Porított Spirulina biomasszánk a kontrollhoz képest 12%-kal megnövelte a *Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128 törzs szaporodási sebességét a fermentáció 6. órájára; a *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* NCAIM B.2127 törzsre vonatkozóan 27,6%-os, a *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257 törzs esetében pedig 5,7%-os volt a szaporodás-serkentés mértéke. 3 g/dm<sup>3</sup> mennyiségű Spirulina adagolása mellett vizsgálva a *Lc. lactis*-t, De Caire és mtsai (2000) 13,4%-os és 3,5%-os serkentést tapasztaltak a fermentáció 4. és 8. órájában. Ezek alapján újból megerősítést nyert Gibson és Roberfroid (1995), valamint Varga és mtsai (1999) megállapítása, miszerint a Spirulina serkentő hatást gyakorol egyes tejsavbaktériumokra.

#### 4.2.5. *Kevert tenyészetben alkalmazott Lactococcus törzsek savtermelésének alakulása Spirulina biomassza-adagolás hatására*

További kísérleteim során azt is vizsgáltam, hogy milyen hatást gyakorol a cianobaktérium biomassza kevert tenyészetben lévő mezofil tejsavbaktériumok savtermelésére. Ennek megfelelően, megvizsgáltam a Spirulina biomasszának mélyfagyasztott DVS kultúrák (CHN-22 és XT-302), valamint a *Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128 és a *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257 kevert tenyészetére gyakorolt hatását (14. táblázat és 22.-24. ábra).

**14. táblázat:** 0,3%-nyi Spirulina biomassa hatása a vizsgált kevert tenyészetek savtermelésére tejben

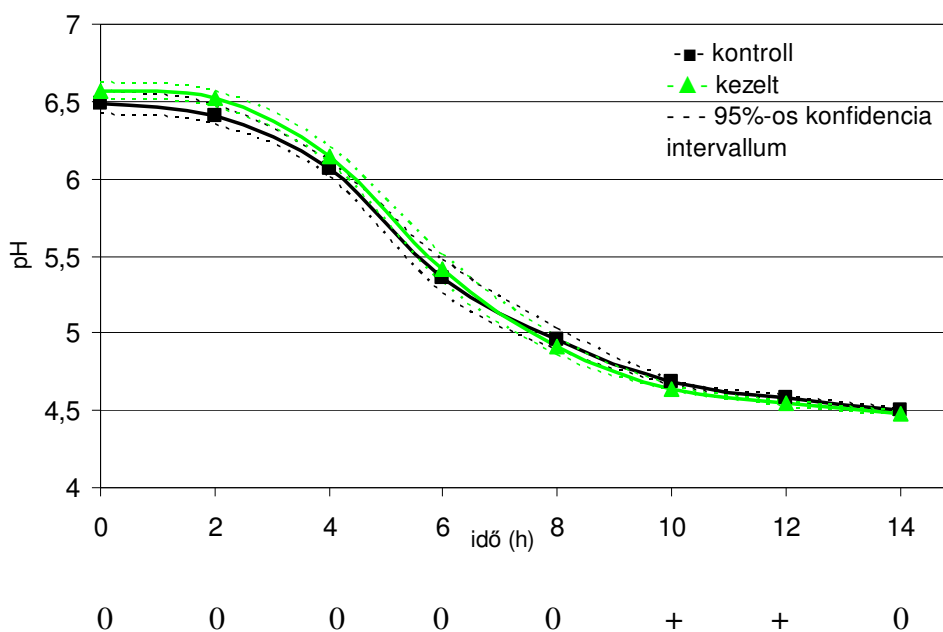
Kevert tenyészet	Kontrollhoz viszonyított átlagos pH-különbség a fermentáció során							
	0. óra	2. óra	4. óra	6. óra	8. óra	10. óra	12. óra	14. óra
CHN-22	-0,08	-0,11	-0,09	-0,05	+0,04	+0,04*	+0,04*	+0,02
XT-311	-0,07*	-0,08*	-0,07*	+0,02	+0,05	+0,02	+0,03	+0,01
B.2128 & 19257‡	-0,03	-0,02	+0,02	+0,20	+0,20*	+0,12	+0,17*	+0,17*

-: Savtermelés lassítása

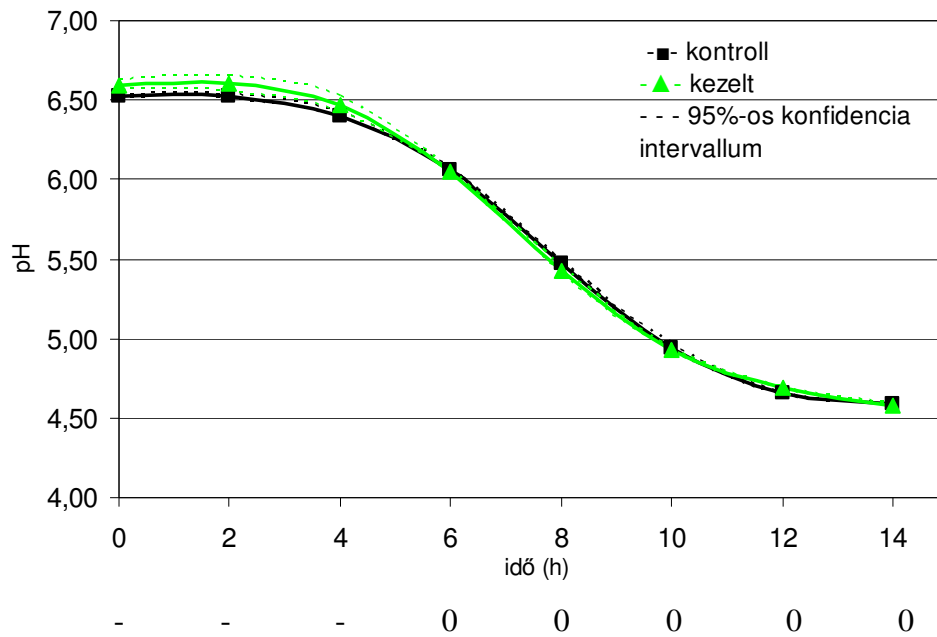
+: Savtermelés serkentése

\* Kontrollhoz viszonyított szignifikáns pH-különbség  $P = 0,05$  szinten ( $n = 6$ )

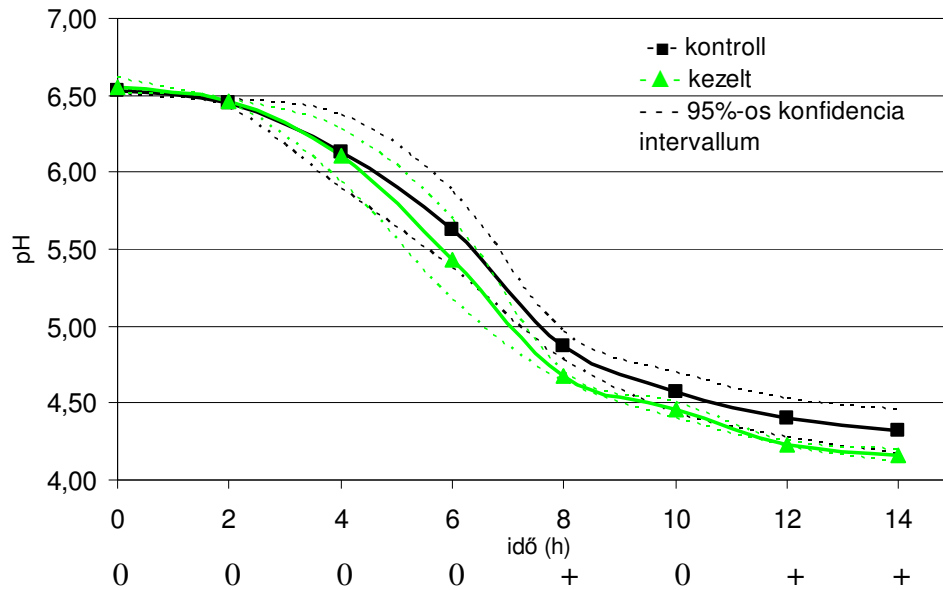
‡ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128 és *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257



**22. ábra:** CHN-22 kultúra által képzett szerves sav hatására bekövetkezett pH-változás kontroll és 0,3%-nyi Spirulina biomasszát tartalmazó kezelt minták esetében ( $n = 6$ )



**23. ábra:** XT-311 kultúra által képzett szerves sav hatására bekövetkezett pH-változás kontroll és 0,3%-nyi Spirulina biomasszát tartalmazó kezelt minták esetében (n = 6)



**24. ábra:** *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128 és *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257 kevert tenyésztete által képzett szerves sav hatására bekövetkezett pH-változás kontroll és 0,3%-nyi Spirulina biomasszát tartalmazó kezelt minták esetében (n = 6)

A CHN-22 kultúra esetében szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) különböztek a kontroll és a kezelt minták 10., ill. 12. órában mért adatai, azonban egyik vizsgálati időpontban detektált serkentés mértéke sem bírt gyakorlati jelentőséggel (**23. ábra**).

A Spirulina biomassza által *Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128 és *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257 kevert tenyésztetének savtermelésére kifejtett hatásról elmondható, hogy a fermentáció 8., 12. és 14. órájában egyaránt szignifikáns különbséget ( $P < 0,05$ ) lehetett megállapítani a kezelt minták javára, de ebben az esetben is jóval a várakozás alatt maradt a savtermelés-serkentés mértéke (**24. ábra**).



### 4.3. A *Spirulina* biomassza antimikrobás hatása

A gátlási vizsgálatok (lyuktesztek) eredményeit a **15. táblázat** foglalja össze. Itt kizárólag azokat a fajokat tüntettem fel, amelyekre a *Spirulina* biomassza valamilyen szintű gátló hatást gyakorolt. A 10-szeres hígítású vizes kivonat esetében 48 db mikroorganizmus-fajra teszteltem le a *Spirulina* hatását. A **15. táblázatban** feltüntettem a gátlási zóna átmérője és a lyuk átmérője között mért különbségek mm-ben kifejezett átlagait. A gátlási zónában a vizsgált mikrobák egyáltalán nem szaporodtak.

**15. táblázat:** A *Spirulina* biomassza vizes oldatának hatása romlást okozó és patogén mikroorganizmusok szaporodására (n = 4)

Mikroorganizmus	Gátlási zóna (mm)			
	Vizes (V)	Centrifugált (C)	Szonikált (S1)	Szonikált + centrifugált (S1C)
<i>Acetobacter</i> sp.	1,5 ±0,1	1,4±0,4	1,3±0,2	1,2±0,4
<i>Bacillus coagulans</i> HNCMB 101007	*	*	n.v.	n.v.
<i>Bacillus mycoides</i> T4	*	*	n.v.	n.v.
<i>Listeria innocua</i> NCAIM B.01375	*	*	*	*
<i>Listeria monocytogenes</i> NCAIM B.01373	1,9±0,1	1,6±0,3	0,8±0,2	1,2±0,2
<i>Micrococcus luteus</i> T21	3,3±0,3	2,1±0,2	3,3±0,4	2,5±0,4
<i>Proteus mirabilis</i> HNCMB 61370	1,4±0,4	1,2±0,4	1,3±0,3	1,2±0,3
<i>Salmonella</i> Typhi-suis HNCMB 15016	2,6±0,5	2,2±0,3	-	0,8±0,1
<i>Sarcina</i> sp.	4,3±0,4	2,7±0,4	4,1±0,3	2,5±0,4
<i>Staphylococcus aureus</i> HNCMB 112002	1,0±0,1	2,5±0,7	1,0±0,1	2,1±0,4
<i>Staphylococcus epidermidis</i> HNCMB 110001	1,0±0,4	2,0±0,5	0,9±0,3	2,0±0,5

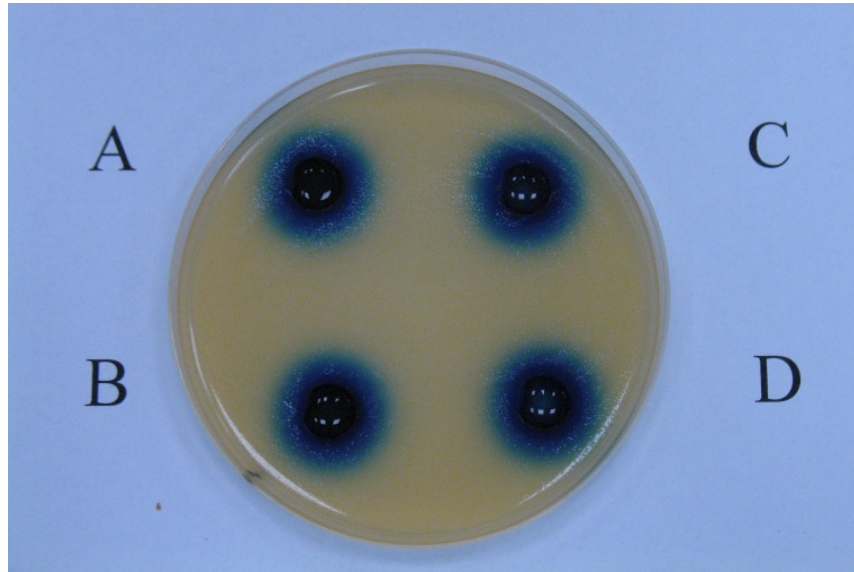
\*: Serkentés

-: Nincs gátlási zóna

n.v.: Nem vizsgált

Az eredmények alapján elmondható, hogy a Spirulina 10-szeres hígítású vizes oldata és a centrifugált oldat felülúszója a *Sarcina* sp.-t gátolta a legnagyobb mértékben, de gátló hatása volt még az *Acetobacter* sp., a *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373 (**25. ábra**), a *Micrococcus luteus* T21, a *Proteus mirabilis* HNCMB 61370, a *Salmonella* Typhi-suis HNCMB 15016, a *S. aureus* HNCMB 112002 és a *S. epidermidis* HNCMB 110001 törzsekre is. A vizes oldat többnyire jobban gátolta a vizsgált mikroorganizmusokat, mint a felülúszó. A **15. táblázatban** közölt eredményekből az is látszik, hogy az ultrahangos sejtfeltárás hatására nem nőtt a vizes oldat hatékonysága. A Spirulina 10-szeres vizes hígításának 6,2-es pH-ja a szonikálás 1. perce után emelkedni kezdett. A 2. percben 6,27-os, majd a 3. percben 6,49-os értéket mértem. A gátlási kísérletekhez csak az 1 percig ultrahangozott kivonatot használtam, mert az extraktum állagában bekövetkezett változás megakadályozta a minta pipettázhatóságát.

De Mulé és mtsai (1996) eredményeinek ellentmondóan, nem tapasztaltam a Spirulina biomassza *Candida albicans*-t gátló hatását, viszont a *S. aureus* kismértékű gátlását észleltem az idézett szerzők által leírt serkentéssel szemben. Bhateja és mtsai (2006) vizes és szerves oldószeres kivonatok hatását vizsgálták vankomicin-rezisztens *S. aureus* törzsekre. Eredményeik alapján a Spirulina egyetlen kivonata sem gyakorolt antibakteriális hatást a vizsgált *S. aureus* törzsekre.



**25. ábra:** A Spirulina biomassza centrifugált vizes oldatának (A és B) és vizes oldatának (C és D) hatása *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373 telepkezésére

#### ***4.4. Mezofil tejsavbaktériumok és Spirulina biomassza felhasználásával készülő funkcionális hatású savanyú tejtermék kifejlesztése***

Minthogy kevert tenyészetek esetében nem mutatkozott meg a Spirulina biomassza alvasztási időt lényegesen csökkentő hatása, ezért a termékfejlesztés kezdetén mindhárom kultúrát (CHN-22, XPL-01, LC) bevontam a vizsgálatokba. A termékfejlesztés során végrehajtott első rangsorolós érzékszervi bírálat eredményeit a **16. táblázat**ban tüntettem fel.

**16. táblázat:** Háromféle starterkultúra, porított Spirulina biomassza és kristálycukor felhasználásával készített aludttej-minták rangsorolósos érzékszervi bírálatának eredménye

Bíráló	Minta								
	SP_1	SP_2	SP_3	SP_4	SP_5	SP_6	SP_7	SP_8	SP_9
A	8	1	7	6	9	2	5	3	4
B	5	2	6	4	9	3	1	8	7
C	2	1	4	3	7	5	6	9	8
D	6	3	7	1	9	4	2	8	5
E	4	1	3	2	8	6	5	9	7
<b>Rangsám-összeg</b>	<b>25</b>	<b>8</b>	<b>27</b>	<b>16</b>	<b>42</b>	<b>20</b>	<b>19</b>	<b>37</b>	<b>31</b>

Táblázatbeli rangszám-összegek: 11-39 ( $P = 95\%$ -os valószínűségi szinten)

Jelmagyarázat:

Kódszám	Kultúra	Spirulina-kiegészítés	Hozzáadott cukor
SP_1	CHN-22	0,30%	6%
SP_2	LC	0,30%	12%
SP_3	LC	0,30%	6%
SP_4	XPL-01	0,30%	12%
SP_5	LC	0,30%	0%
SP_6	CHN-22	0,30%	12%
SP_7	XPL-01	0,30%	6%
SP_8	CHN-22	0,30%	0%
SP_9	XPL-01	0,30%	0%

A Kramer-táblázatból 9 mintához és 5 bírálóhoz kikeresett rangszám-összegek: 11 és 39, tehát azok a minták, amelyek rangszám-összege 11-nél kisebb, vagy 39-nél nagyobb, szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) különböznek a többitől. Mindezek alapján elmondható, hogy a vizsgált minták közül az SP\_2 jelű szignifikánsan jobbnak ( $P < 0,05$ ) bizonyult a többinél. Az SP\_5 minta rangszám-összege 39-nél nagyobb lett, ez a többinél szignifikánsan rosszabb ( $P < 0,05$ ) eredményt jelentett. A többi minta esetében felállított rangsor nem jelentett szignifikáns különbséget ( $P > 0,05$ ), de a rangszám-összegeket tovább vizsgálva elmondható, hogy a nagyobb hozzáadott cukortartalom kedveltebb volt a bírálók körében. Ezt támasztja alá a legjobb helyezést kapott nagy (12%) cukortartalmú SP\_2-es és a rangsor végén szereplő, hozzáadott cukrot nem tartalmazó SP\_5-ös minta eredménye is.

A termékfejlesztés keretében elvégzett második érzékszervi bírálat során a legkedveltebb (LC) kultúrával készített aludttej-minta receptúráját kívántam közelíteni a fogyasztói igényekhez. Ebben az esetben a minták előállításához kivi-, valamint kivi+eper-aromát is használtam. Az így összeállított alapanyagot 8%, 10%, ill. 12% hozzáadott kristálycukorral egészítettem ki. A felkínált 6 minta érzékszervi bírálatának eredményei a **17. táblázatban** láthatók.

**17. táblázat:** LC starterkultúra, porított Spirulina biomassa, kristálycukor és aromaanyag felhasználásával készített aludttej-minták rangsorolások érzékszervi bírálatának eredménye

Bíráló	Minta					
	SP_1	SP_2	SP_3	SP_4	SP_5	SP_6
A	1	2	4	6	5	3
B	3	1	5	6	4	2
C	1	5	6	3	4	2
D	2	3	6	4	5	1
E	2	3	1	5	6	4
F	5	2	1	3	6	4
G	4	1	5	2	3	6
H	3	2	4	6	1	5
I	1	2	6	4	5	3
J	3	2	5	6	1	4
K	1	3	2	5	6	4
L	1	6	4	3	2	5
<b>Rangsám-összeg</b>	<b>27</b>	<b>32</b>	<b>49</b>	<b>53</b>	<b>48</b>	<b>43</b>

Táblázatbeli rangszám-összegek: 28-56 ( $P = 95\%$ -os valószínűségi szinten)

Jelmagyarázat:

Kódszám	Kultúra	Spirulina-kiegészítés	Hozzáadott cukor	Ízesítés
SP_1	LC	0,30%	10%	epres-kivis
SP_2	LC	0,30%	12%	kivis
SP_3	LC	0,30%	8%	kivis
SP_4	LC	0,30%	12%	epres-kivis
SP_5	LC	0,30%	10%	kivis
SP_6	LC	0,30%	8%	epres-kivis

A Kramer-táblázat megfelelő értékei alapján azok a minták különböznek szignifikánsan a többitől, amelyek rangszám-összege 28-nál kisebb, vagy 56-nál nagyobb. Az előbbi esetre egyetlen példát találhatunk az

eredmények között: az SP\_1-es minta (eper+kivi aromával és 10% hozzáadott kristálycukorral) íz tekintetében szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) jobbnak bizonyult mindegyik bírált tételnél. A többi esetben nem mutatkozott szignifikáns különbség ( $P > 0,05$ ) a minták között. Amennyiben megvizsgáljuk a rangsor-számok alapján kialakult abszolút sorrendet, elmondhatjuk, hogy az első érzékszervi bírálattal ellentétben megszűnt a hozzáadott cukor domináns hatása.

A Spirulina biomassza originális állapotában olyan erőteljes érzékszervi tulajdonságokkal rendelkezik, amelyek sok potenciális vásárlót visszatartanak a natúr por fogyasztásától. A mélyzöld szín, a fűre emlékeztető íz és illat az aludttej-alapú ízesített termékben viszont kevésbé jelenik meg a kis koncentrációban történő alkalmazás miatt. Japán feltalálók szerint a Spirulina vizes oldatát tejsavbaktériumokkal kell beoltani cukor adagolása mellett, és a tejsavbaktériumok 2 nagyságrendnyi szaporodása után ismét meg kell szárítani a terméket. Az így nyert biomassza kevésbé intenzív illattal és ízzel rendelkezik (url<sup>11</sup>).

Belay (2008) szerint a biomassza jótékony hatásainak kifejeződéséhez napi 1-2 g-nyi Spirulina elfogyasztása szükséges, ezért egy harmadik érzékszervi bírálatot megelőzően – a fogyasztói szokásokat is figyelembe véve – kétszeresére növeltük a termékbe bevitt Spirulina biomassza mennyiségét. Így a fogyasztó a savanyú tejtermékeknel megszokott napi 200 cm<sup>3</sup>-nyi (1 pohár) aludttej elfogyasztása esetén – 0,6%-os kiegészítéssel számolva – 1,2 g-nyi Spirulinához jutna hozzá.

A minták 1,5% kivi+eper-aromát és 10% hozzáadott kristálycukrot, valamint 0%, 0,3%, ill. 0,6% Spirulina biomassza-kiegészítést tartalmaztak. A felkínált 3 minta érzékszervi bírálatának eredményei a **18. táblázatban** láthatóak.

**18. táblázat:** LC starterkultúra, különböző koncentrációkban adagolt porított Spirulina biomassza, kristálycukor és aromaanyag felhasználásával készített aludttej-minták rangsorolásos érzékszervi bírálatának eredménye

Bíráló	Minta		
	SP_1	SP_2	SP_3
A	2	3	1
B	2	3	1
C	1	3	2
D	1	3	2
E	1	3	2
F	1	3	2
G	1	2	3
H	2	3	1
I	1	3	2
J	3	2	1
K	2	3	1
L	2	1	3
<b>Rangszám-összeg</b>	<b>19</b>	<b>32</b>	<b>21</b>
Táblázatbeli rangszám-összegek: 18-30 ( $P = 95\%$ -os valószínűségi szinten)			

Jelmagyarázat:

Kódszám	Kultúra	Spirulina-kiegészítés	Hozzáadott cukor	Ízesítés
SP_1	LC	0,3%	10%	epres-kivis
SP_2	LC	0,6%	10%	epres-kivis
SP_3	LC	0,0%	10%	epres-kivis

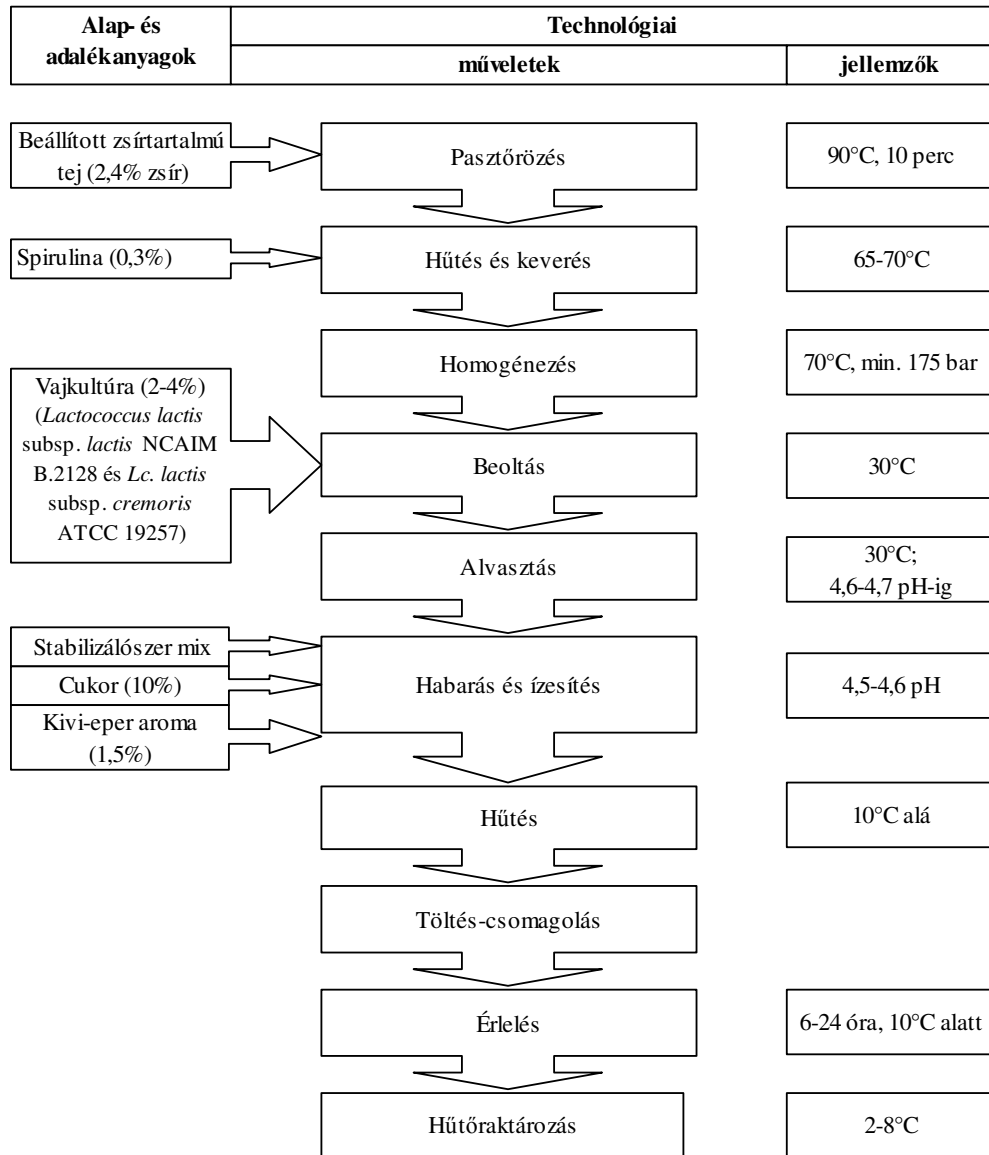
A Kramer-táblázat vonatkozó értékei alapján azok a minták különböznek szignifikánsan a többitől, amelyek rangszám-összege 18-nál kisebb, vagy 30-nál nagyobb. Az SP\_2 jelű minta rangszám-összege 32 lett, márpedig ez a többinél szignifikánsan rosszabb ( $P < 0,05$ ) eredményt jelent. A másik két minta esetében nem alakult ki szignifikáns különbség ( $P > 0,05$ ), de említést érdemel, hogy a 0,3%-nyi Spirulinát tartalmazó terméket (SP\_1) a bírálók jobbnak ítélték meg, mint a Spirulina nélküli natúr aludttejet (SP\_3).

Ugyan indokolt lenne, hogy a vásárló 1 pohár (200 cm<sup>3</sup>) termékkel hozzájusson a napi ajánlott beviteli mennyiséghez, de az érzékszervi vizsgálatok eredménye alapján a hozzáadott biomassza mennyiségének növelése által létrejött ízintenzitás-fokozódást a fogyasztó már nem tolerálja.

Az LC kultúrával készült, 3 g/dm<sup>3</sup>-nyi Spirulina biomasszát és 10%-nyi hozzáadott cukrot tartalmazó, epres-kivis ízesítésű savanyú tejtermék 100 g-ra vonatkoztatott átlagos tápanyag-összetétele az alábbiak szerint alakul: 3,2 g fehérje, 2,5 g zsír és 14,8 g szénhidrát; energiatartalma pedig 95,0 kcal. Megállapítható, hogy az érzékszervi tulajdonságok javítása céljából hozzáadott cukor mennyisége a hasonló termékekben alkalmazotthoz képest valamivel nagyobb. Célunk természetes édesítők (pl. méz, Stevia stb.) felhasználásával csökkenteni a termék energiatartalmát. Fruktóz használata esetén 60-75%-kal lehetne csökkenteni a hozzáadott cukor mennyiségét. A prebiotikus hatásáról ismert inulin viszont nem elég édes ahhoz, hogy egyedüli édesítőként alkalmazzuk, ellenben egy táplálóértékkel nem rendelkező édesítőszerrel együtt használva jó eredményeket érhetünk el vele.

A **26. ábrán** az általam kifejlesztett funkcionális tulajdonságú aludttej gyártási folyamatábrája látható.





**26. ábra:** Spirulinával dúsított funkcionális hatású aludttej gyártástechnológiai folyamatábrája

**4.5. A *Spirulina* biomassza hatása az új típusú ízesített aludttej tárolhatóságára**

A  $4\pm 2^\circ\text{C}$ -on tárolt ízesített aludttejek *Lactococcus*-számának alakulását a **19.** és a **20. táblázat** szemlélteti.

**19. táblázat:** Laktokokkuszkok élősejt-számának\* alakulása *Spirulina* biomasszával dúsított, ill. kontroll ízesített aludttejben,  $4^\circ\text{C}$ -os tárolás során

Tárolási idő (nap)	<i>Lactococcus</i> -szám	
	Kontroll	Spirulinával dúsított
0	$8,53 \pm 0,05^a$	$8,65 \pm 0,07^b$
7	$8,66 \pm 0,17^a$	$8,92 \pm 0,18^b$
14	$8,49 \pm 0,17^a$	$8,79 \pm 0,23^b$
21	$8,47 \pm 0,05^a$	$8,65 \pm 0,16^a$
28	$8,39 \pm 0,10^a$	$8,26 \pm 0,17^a$
35	$7,57 \pm 0,11^a$	$7,57 \pm 0,12^a$
42	$7,44 \pm 0,07^a$	$7,43 \pm 0,05^a$

\* Az adatok 6 vizsgálat (3 párhuzamos, 2 ismétlés)  $\log \text{CFU}/\text{cm}^3$ -átlagát $\pm$ szórását jelölik

<sup>a,b</sup> Az azonos sorban szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek ( $P < 0,05$ )

**20. táblázat:** Laktokokkuszkok túlélési arányának alakulása *Spirulina* biomasszával dúsított, ill. kontroll ízesített aludttejben,  $4^\circ\text{C}$ -os tárolás során

Tárolási idő (nap)	<i>Lactococcus</i> -ok túlélési aránya (%)*	
	Kontroll	Spirulinával dúsított
0	100,00	100,00
7	133,78	186,00
14	91,21	137,03
21	86,78	100,92
28	71,83	40,72
35	11,05	8,34
42	8,06	6,09

\* Az egyes adatok a **19. táblázat**ban feltüntetett élősejtszám-átlagokból számított százalékos átlagértéket jelölnek ( $n = 6$ )

A *Spirulina* biomasszával dúsított ízesített aludttej *Lactococcus*-száma a tárolás első 2 hetében szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) nagyobb volt, mint a kontroll terméké, igazolva a cianobaktérium biomassza kokkuszos alakú

tejsavbaktériumokra gyakorolt serkentő hatását (Varga *et al.*, 1999). Mind a kontroll, mind a Spirulinával kiegészített termékben élősejtszám-növekedés volt tapasztalható a tárolás első hetében, ezt követően azonban csökkenő tendencia érvényesült. A tárolási idő végén nem különbözött szignifikáns mértékben ( $P > 0,05$ ) a kontroll és a Spirulina-tartalmú termékek *Lactococcus*-száma (**19. táblázat**).

Termofil tejsavbaktériumok termékbeli túlélését vizsgálva, Medina és Jordano (1995), valamint Varga és mtsai (2002) szintén sejtszám-növekedést tapasztalták a tárolás kezdetén, a gyártás végén mért sejtszámokhoz képest. A starterbaktériumok élősejt-száma a maximális érték elérése után folyamatosan csökkent a termék hűtve tárolása során.

A magyar élelmiszer-szabályozás alapján, az előflórás savanyú tejtermékekben a kultúrából származó tejsavbaktériumoknak legalább  $10^7$  CFU/g mennyiségben kell jelen lenniük a minőség-megőrzési idő végéig (Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, 2004). Termékeim a 42 napos tárolási kísérlet során mindvégig megfeleltek ennek az előírásnak.

A **21. táblázat** a Spirulinával dúsított, ill. kontroll aludttej-minták kémhatásának tárolás alatti alakulását szemlélteti.

**21. táblázat:** A pH-érték alakulása Spirulina biomasszával dúsított, ill. kontroll ízesített aludttejben, 4°C-os tárolás során

Tárolási idő (nap)	pH-érték*	
	Kontroll	Spirulinával dúsított
0	4,41 ± 0,05 <sup>a</sup>	4,31 ± 0,02 <sup>b</sup>
7	4,30 ± 0,05 <sup>a</sup>	4,18 ± 0,04 <sup>b</sup>
14	4,26 ± 0,05 <sup>a</sup>	4,15 ± 0,04 <sup>b</sup>
21	4,24 ± 0,04 <sup>a</sup>	4,14 ± 0,04 <sup>b</sup>
28	4,21 ± 0,03 <sup>a</sup>	4,12 ± 0,04 <sup>b</sup>
35	4,20 ± 0,01 <sup>a</sup>	4,11 ± 0,02 <sup>b</sup>
42	4,18 ± 0,02 <sup>a</sup>	4,10 ± 0,02 <sup>b</sup>

\* Az adatok 6 vizsgálat (3 párhuzamos, 2 ismétlés) pH-átlagát±szórását jelölik

<sup>a,b</sup> Az azonos sorban szereplő eltérő betűk szignifikáns különbséget jeleznek ( $P < 0,05$ )

A cianobaktérium biomassza felhasználásával készült aludttej és a kontroll termék kezdeti kémhatása közötti szignifikáns ( $P < 0,05$ ) különbség a Spirulina biomassza által a tejsavbaktériumok savtermelésére gyakorolt serkentő hatásnak volt betudható. A kontroll termék esetében 0,11 egységnyi, a Spirulina-tartalmú aludttejnél pedig 0,13 egységnyi pH-csökkenés következett be a tárolás első hetének végére. A későbbiekben fokozatosan csökkentek a pH-értékek, azonban a Spirulina biomasszával kiegészített termék és a kontroll aludttej kémhatása közötti szignifikáns ( $P < 0,05$ ) különbség a tárolás végéig megmaradt.

## 5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Az esszenciális aminosavakban, telítetlen zsírsavakban és vitaminokban gazdag Spirulina biomassa növeli a tehéntej táplálkozás-élettani értékét, ezért több szempontból is javasolható adalékanyagként történő felhasználása savanyú tejtermékek előállításához. Természetesen ezek a jótékony hatások nagyban függenek az alkalmazott biomassa koncentrációjától. A hatékony, elfogadható önköltségi árral rendelkező és érzékszervi szempontból is megfelelő koncentráció: 3 g/dm<sup>3</sup>.

A kereskedelmi forgalomban kapható porított Spirulina biomassa mikrobiológiai állapota megfelel a nemzetközi ajánlásoknak, egyedül az összcsíraszám csökkentésére kellene nagyobb hangsúlyt fektetni a biomassa feldolgozása és csomagolása során. A Spirulina adalékanyagként történő felhasználása esetén szigorúbb határértékeket kellene meghatározni a biomassa mikrobiológiai állapotával szemben.

A Spirulina biomassa szignifikáns mértékben ( $P < 0,05$ ) serkenti néhány, a tejipar által használt mezofil tejsavbaktérium (*Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128, *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* NCAIM B.2127, *Lc. lactis* subsp. *cremoris* NCAIM B.2124, *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257, *Ln. mesenteroides* subsp. *cremoris* NCAIM B.2120 *Ln. mesenteroides* subsp. *dextranicum* NCAIM B.1658) savtermelését. A *Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128, a *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* NCAIM B.2127 és a *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257 törzsek esetében a sejtszámok vizsgálata is igazolta a *S. platensis* nagymértékű stimuláló hatását.

A mezofil tejsavbaktériumokat leggyakrabban vegyes tenyészetben használja a tejipar. Az általam megvizsgált, jelenleg is alkalmazott kultúrák esetében a *Spirulina* savtermelés-serkentő hatása olyan kicsi, hogy gyakorlati szempontból nincs jelentősége. A *Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128 és a *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257 felhasználásával készített kevert-tenyészet esetében sem tapasztaltam olyan mértékű serkentő hatást, amely az egytörzs-tenyészetek eredményei alapján várható lett volna.

A *Spirulina* biomassza tejsavbaktériumokra kifejtett biológiai aktivitását látva, ígéretes lenne a későbbiekben ezt az anyagot tejsavbaktériumok tenyésztésére szolgáló tápközegek összetevőjeként alkalmazni.

A porított *Spirulina* biomassza vizes oldata gátló hatást gyakorol a *Sarcina* sp., az *Acetobacter* sp., a *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373, a *Micrococcus luteus* T21, a *Proteus mirabilis* HNCMB 61370, a *Salmonella* Typhi-suis HNCMB 15016, a *Staphylococcus aureus* HNCMB 112002 és a *Staphylococcus epidermidis* HNCMB 110001 törzsre.

A *Spirulina* egyik legfontosabb tulajdonsága, hogy kivételesen gazdag bioaktív komponensekben, így újfajta lehetőségeket teremt funkcionális tejtermékek előállítására. A termékfejlesztés keretében elvégzett próbagyártások és rangsorolások érzékszervi bírálatok eredményei alapján kidolgoztam egy ízesített aludttej-termék szabadalmaztatható gyártástechnológiai folyamatát. A későbbiekben javasolt lenne a 0,6%-os *Spirulina* biomassza kiegészítést tartalmazó aludttej-termék receptúráját érzékszervi próbák segítségével közelíteni a fogyasztói igényekhez.

A *Spirulina* biomassza kokkusz-alakú tejsavbaktériumokra gyakorolt serkentő hatása nemcsak a fermentációs folyamat során, hanem a késztermék hűtve tárolásának kezdeti szakaszában is megmutatkozik.

A funkcionális és különleges élelmiszerek iránt világszerte dinamikusan növekszik a kereslet, így valószínűsíthető, hogy a világ más országaihoz hasonlóan hazánkban is hamarosan megjelennek a cianobaktériumokkal (algákkal) kiegészített élelmiszerek az üzletek polcain.

## 6. ÖSSZEFOGLALÁS

A fermentált tejtermékek fogyasztása világszerte növekvő tendenciát mutat. Napjainkban a tejipar a tejet ásványi anyagokkal, vitaminokkal és antioxidánsokkal egészíti ki. Érdeemes megfontolni a Spirulina biomassza savanyú tejtermékekhez történő adagolásának lehetőségét, hiszen természetes eredetű termékről van szó, amely egyes tejsavbaktériumok gyorsabb savtermelését és intenzívebb szaporodását idézi elő.

Vizsgálataim során arra kerestem a választ, hogy mezofil tejsavbaktérium színtenyészetek fermentációs aktivitása serkenthető-e cianobaktérium biomassza adagolásával. Célkitűzéseim az alábbiak voltak:

- A porított Spirulina biomassza mikrobiológia állapotának ellenőrzése.
- A Spirulina biomassza *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* és *Leuconostoc mesenteroides* törzsek savtermelő képességére gyakorolt hatásának vizsgálata tej tápközegben; tudvalévő ugyanis, hogy a gyorsabb savképződés a gyártási idő rövidülését és a termelékenység növekedését eredményezheti, továbbá megakadályozza a nemkívánatos mikroflóra elszaporodását, és komoly szerepet tölt be a termék állományának, ízének kialakításában.
- Spirulina-kivonatok mikroorganizmus-gátló/serkentő hatásának megállapítása agardiffúziós lyukteszttel.
- Egy olyan savanyú tejtermék előállítási technológiájának a kidolgozása a kiválasztott törzsek felhasználásával, amely a hagyományos tejipari gyártmányoknál gazdagabb víz- és zsíroldható vitaminokban, mikroelemekben, esszenciális aminosavakban,



---

telítetlen zsírsavakban, pre- és probiotikus hatású komponensekben, vagyis funkcionális minőséggel rendelkezik.

- Tárolási kísérlettel ellenőrizni a Spirulina biomassza hatását a tejsavbaktériumok termékbeli életképességének (túlélésének) alakulására.

Kísérleteim kezdetén élősejt-szám meghatározási módszerekkel ellenőriztem a Spirulina biomassza mikrobiológia állapotát, és a terméket ebből a szempontból élelmiszer-adalékanyagként történő hasznosításra megfelelőnek találtam.

Az Spirulina biomassza mezofil tejsavbaktériumokra gyakorolt hatásának felmérése során a biomasszával különböző koncentrációkban kiegészített, modell-tápközegként szolgáló tejtételeket a vizsgálni kívánt mezofil tejsavbaktérium törzsek 1%-nyi inokulumával oltottam be. Kontrollként ugyanezeknek a kezeléseknél Spirulina nélküli változatait állítottam be. A tenyésztést 30°C-on végeztem. A kezeléseket 3 párhuzamos beállítás mellett, 2 ismétlésben hajtottam végre. Kétóránként végeztem pH-mérést.

Meghatároztam, hogy a cianobaktérium biomassza az érzékszervi tulajdonságok és az ökonómiai szempontok figyelembe vételével célszerűen 0,3%-os koncentrációban alkalmazandó *Lactococcus*- és *Leuconostoc*-törzsek serkentésére. Kiválasztottam azokat a *Lactococcus*- és *Leuconostoc*-törzseket, amelyek savtermelése leginkább stimulálható volt Spirulina biomassza adagolásával. A legjobb savtermelő *Lactococcus*-törzsek (*Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128, *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetyllactis* NCAIM B.2127 és *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257) esetében lemezöntéses eljárással követtem nyomon az élősejtszám-változást a fermentáció során. A Spirulina biomassza mindhárom törzs szaporodási

sebességét szignifikáns mértékben ( $P < 0,05$ ) megnövelte a fermentáció 6. órájára.

Agardiffúziós lyukteszttel felmértem a Spirulina biomassza élelmiszer-romlást okozó és élelmiszer-eredetű kórokozó mikrobákra gyakorolt hatását. A Spirulina vizes oldata gátolta a *Sarcina* sp., az *Acetobacter* sp., a *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373, a *Micrococcus luteus* T21, a *Proteus mirabilis* HNCMB 61370, a *Salmonella* Typhi-suis HNCMB 15016, a *Staphylococcus aureus* HNCMB 112002 és a *Staphylococcus epidermidis* HNCMB 110001 törzs szaporodását.

Különbéféle kísérleti termékváltozatok közül, érzékszervi bírálatok eredménye alapján, a *Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128 és a *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257 törzs keverékével készített, 0,3% Spirulina biomasszát, 10% hozzáadott cukrot tartalmazó, epres-kivis ízesítésű aludttej bizonyult a legkedveltebbnek. Ennek alapján elkészítettem az új típusú, Spirulinával dúsított funkcionális hatású aludttej gyártási folyamatábráját, majd elvégeztem a termék 6 hetes hűtve tárolási kísérletét. A Spirulina biomassza hatására a tárolás első 2 hetében szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) nagyobb *Lactococcus*-szám volt megfigyelhető a kontroll termékhez képest.

Összességében megállapítható, hogy Spirulina nemcsak az emberi szervezetre, de a savanyú tejtermékek gyártásához felhasznált mezofil tejsavbaktériumokra is igen kedvező hatással van. Serkenti savtermelő aktivitásukat és szaporodásukat, tehát azon túlmenően, hogy – összetételéből adódóan – még értékesebb táplálékká, funkcionális élelmiszerré varázsolja az amúgy is becses táplálkozás-élettani tulajdonságokkal rendelkező savanyú tejtermékeket, még a termék-előállítását is némileg gazdaságosabbá teszi.

A fogyasztóknak minden bizonnyal kevesebb gyógyszerre és mesterségesen előállított ásványi anyag-, ill. vitamin-készítményre lenne

szükségük, ha a fermentált tejtermékeket természetes forrásból származó vitaminokkal, fehérjékkel, esszenciális zsírsavakkal és nyomelemekkel gazdagítanánk. Ennek egyik lehetősége az általam is vizsgált Spirulina biomassza savanyú tejtermékeink előállításában való alkalmazása.

## ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. A 3 g/dm<sup>3</sup>-es mennyiségben alkalmazott *Spirulina* biomassza szignifikáns mértékben ( $P < 0,05$ ) növeli egyes mezofil tejsavbaktérium-törzsek (*Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128, *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* NCAIM B.2127, *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257, *Lc. lactis* subsp. *cremoris* NCAIM B.2124, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* NCAIM B.2120) savtermelő aktivitását a fermentációs folyamat során. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128, *Lc. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* NCAIM B.2127 és *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257 esetében élősejtszám-meghatározás útján igazoltam a cianobaktérium-biomassza szaporodás-serkentő hatását is.
2. A *Spirulina* biomassza élelmiszer-romlást okozó mikroorganizmusokra, illetve élelmiszerekkel terjedő kórokozó mikrobákra gyakorolt hatását agardiffúziós lyukteszttel vizsgálva megállapítottam, hogy annak vizes oldata gátolja a *Sarcina* sp., az *Acetobacter* sp., a *Listeria monocytogenes* NCAIM B.01373, a *Micrococcus luteus* T21, a *Proteus mirabilis* HNCMB 61370, a *Salmonella* Typhi-suis HNCMB 15016, a *Staphylococcus aureus* HNCMB 112002 és a *Staphylococcus epidermidis* HNCMB 110001 törzs szaporodását.
3. Kidolgoztam egy új típusú, Spirulinával dúsított, funkcionális hatású aludttej-készítmény szabadalmaztatható gyártástechnológiai folyamatát. Különbéféle kísérleti termékváltozatok közül, érzékszervi bírálatok

eredménye alapján, a *Lc. lactis* subsp. *lactis* NCAIM B.2128 és a *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ATCC 19257 törzs keverékével készített, 0,3% Spirulina biomasszát, 10% hozzáadott cukrot tartalmazó, epres-kivis ízesítésű aludttej bizonyult a legkedveltebbnek. A termék 6 hetes,  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ -on végzett tárolási kísérlete során a Spirulina biomassza a tárolás első 2 hetében szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) növelte a mezofil starterbaktériumok életképességét az aludttej-termékben.

## **KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS**

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Varga László egyetemi docens úrnak, aki iránymutatásával, tanácsaival és dolgozatom javítását szolgáló kritikai észrevételeivel segítette munkámat.

Köszönettel tartozom Dr. Szigeti Jenő professzor úrnak, aki megteremtette számomra a kutatómunka elvégzésének feltételeit a Nyugat-magyarországi Egyetem Élelmiszer-tudományi Intézetének mikrobiológiai laboratóriumában.

Kollégáim: Dr. Krász Ádám, Dr. Farkas László, Dr. Ásványi Balázs, Dr. Ajtony Zsolt, Tihanyi-Kovács Renáta, Sipos-Kozma Zsófia, Lökösházi Éva segítő tanácsai, valamint Ankhelyi Istvánné, Göncz Ferencné és Németh Ferenc laboratóriumi munkában nyújtott segítsége nagyban támogatta munkámat. Ezúton szeretném megköszönni a Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet dolgozóinak a kísérleteim kivizsgálása során nyújtott segítségüket.

Köszönet illeti családomat és barátaimat, akik szeretetükkel és megértésükkel nagy segítséget nyújtottak számomra az értekezés elkészítése során. Mindig támogattak, ha nehézségbe ütköztem és bíztattak, hogy kellő akarattal megvalósíthatom terveimet.

---

## 7. IRODALOMJEGYZÉK

- Alzamora, S.M., Salvatori, D., Tapia, S.M., López-Malo, A., Welti-Chanes, J. & Fito, P. (2005) Novel functional foods from vegetable matrices impregnated with biological active compounds. *Journal of Food Engineering* **67**, 205-214.
- American Dietetic Association (2004) Position of the American Dietetic Association. Functional foods. *Journal of the American Dietetic Association* **104**, 814-826.
- An, J. & Carmichael, W.W. (1996) *Technical booklet for the microalgae biomass industry: detection of microcystins and nodularins using an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) and a protein phosphatase inhibition assay (PPIA)*. Department of Biological Sciences, Wayne State University, Dayton, OH.
- Anderson, A.W. & Elliker, P.R. (1953) The nutritional requirements of lactic streptococci isolated from starter cultures. II. A stimulatory factor required for rapid growth of some strains in reconstituted nonfat milk solids. *Journal of Dairy Science* **36**, 608-613.
- Anupama, P.R. (2000) Value-added food: single cell protein, *Biotechnology Advances* **18**, 459-479.
- ASU L 00.00-20 (2004) Untersuchung von Lebensmitteln - Horizontales Verfahren zum Nachweis von *Salmonella* spp. in Lebensmitteln (Übernahme der gleichnamigen Norm DIN EN ISO 6579, Ausgabe März 2003)
- ASU L 00.00-55 (2004) Untersuchung von Lebensmitteln - Verfahren für die Zählung von koagulase-positiven Staphylokokken (*Staphylococcus aureus* und andere Spezies) in Lebensmitteln - Teil 1: Verfahren mit Baird Parker Agar (Übernahme der gleichnamigen Norm DIN EN ISO 6888-1, Ausgabe Dezember 2003)
- ASU L 00.00-88 (2004) Untersuchung von Lebensmitteln - Horizontales Verfahren für die Zählung von Mikroorganismen - Koloniezählverfahren bei 30°C (Übernahme der gleichnamigen Norm DIN EN ISO 4833, Ausgabe Juni 2003, als Ersatz für die bisherige amtliche Methode L 01.00-5)
- ASU L 01.00-37 (1991) Untersuchung von Lebensmitteln; Bestimmung der Anzahl von Hefen und Schimmelpilzen in Milch und Milchprodukten; Referenzverfahren

- ASU L 05.00-5 (1990) Untersuchung von Lebensmitteln; Bestimmung von *Enterobacteriaceae* in Eiern, Eiprodukten, Mayonnaisen, emulgierten Soßen und kalten Fertigsoßen; Gußverfahren (Referenzverfahren)
- Axelsson, L. (1998) Lactic acid bacteria: classification and physiology. In Salminen, S. and von Wright, A. (eds.), *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*. Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 6-7.
- Ayehunie, S., Belay, A., Baba, T.W. & Ruprecht, R.M. (1998) Inhibition of HIV-1 replication by an aqueous extract of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*). *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology* **18**, 7-12.
- Barefoot, S.F. & Nettles, C.G. (1993) Antibiosis revisited: bacteriocins produced by dairy starter cultures. *Journal of Dairy Science* **76**, 2366-2379.
- Belay, A. (1997) Mass culture of *Spirulina* outdoors – the Earthrise Farms experience. In Vonshak, A. (ed.) *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): *Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. Taylor & Francis Ltd., London, pp. 131-158.
- Belay, A. (2008) *Spirulina* (*Arthrospira*): production and quality assurance In: Gershwin, M.E. & Belay, A. (eds.) *Spirulina in Human Nutrition and Health*. Taylor & Francis Group LLT, London, pp. 6-8.
- Belay, A., Kato, T. & Ota, Y. (1996) *Spirulina* (*Arthrospira*): potential application as an animal feed supplement. *Journal of Applied Phycology* **8**, 303-311.
- Belay, A., Ota, Y., Miyakawa, K. & Shimamatsu, H. (1993) Current knowledge on potential health benefits of *Spirulina*. *Journal of Applied Phycology* **5**, 235-241.
- Benkendorff, K., Davis, A.R., Rogers, C.N. & Bremner, J.B. (2005) Free fatty acids and sterols in the benthic spawn of aquatic molluscs, and their associated antimicrobial properties. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **316**, 29-44.
- Bhat, V.B., & Madyastha, K.M. (2000) C-phycoyanin: a potent peroxyl radical scavenger in vivo and in vitro. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **275**, 20-25.
- Bhateja, P., Mathur, T., Pandya, M., Fatma, T. & Rattan, A. (2006) Activity of blue green microalgae extracts against in vitro generated *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin. *Fitoterapia* **77**, 233-235.



- 
- Biacs, P. (2006) Funkcionális élelmiszerek előállítása, forgalmazása és fogyasztása. *Magyar Dietetikusok Országos Szövetségének VIII. Szakmai Konferenciája*, Budapest, 2006. február 17-18.
- Blinkova, L.P., Gorobets, O.B. & Baturo, A.P. (2001) Biological activity of *Spirulina platensis*. *Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii i Immunbiologii* **2**, 114-118.
- Boone, D.R. and Castenholz, R.W. (Eds) (2001) The Archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria. In *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed., Vol. 1. Springer Verlag, New York, NY.
- Booth, I.R. & Kroll, R.G. (1989) The preservation of foods by low pH. In Gould, G.W. (ed.) *Mechanisms of Action of Food Preservation Procedures*. Elsevier Science Publishers, Essex, UK, pp. 119-160.
- Borowitzka, M.A. (1995) Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds. *Journal of Applied Phycology* **7**, 3-15.
- Borowitzka, M.A. (1999) Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology* **70**, 313-321.
- Borowitzka, M.A. & Borowitzka, L.J. (1988) *Micro-algal Biotechnology*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 96-100.
- Bury, D., Jelen, P. & Kimura, K. (1998) Whey protein concentrate as a nutrient supplement for lactic acid bacteria. *International Dairy Journal* **2**, 149-151.
- Bylund, G. (1995) *Dairy Processing Handbook*, Tetra Pak Processing Systems AB, Lund, 235 pp.
- Careri, M., Furlattini, A., Maniga, A., Musci, M., Anklam, E., Theobald, A. & Von Host, C. (2001) Supercritical fluid extraction for liquid chromatographic determination of carotenoids in *Spirulina pacifica* algae: a chemometric approach. *Journal of Chromatography A* **912**, 61-67.
- Castenholz, R.W. (1992) Species usage, concept and evolution in the cyanobacteria (blue-green algae). *Journal of Phycology* **28**, 737-745.
- Champomier-Vergés, M.C., Maguin, E., Mistou, M.Y., Anglade, P. & Chich, J.F. (2002) Lactic acid bacteria and proteomics: current knowledge and perspectives. *Journal of Chromatography B* **771**, 329-342.

- Chen, F. & Zhang, Y. (1997) High cell density mixotrophic culture of *Spirulina platensis* on glucose for phycocyanin production using a fed-batch system. *Enzyme and Microbial Technology* **20**, 221–224.
- Ciferri, O. (1983) *Spirulina*, the edible microorganism. *Microbiological Reviews* **47**, 551-578.
- Citti, J.E., Sandine, W.E. & Elliker, P.R. (1965) Comparison of slow and fast acid producing *Streptococcus lactis*. *Journal of Dairy Science* **48**, 14-18.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2006a) Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. *Approved standard M02-A9*. CLSI, Villanova, PA.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2006b) Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. *Approved standard M07-A7*. CLSI, Villanova, PA.
- Cohen, Z. (1997) The chemicals of *Spirulina*. In Vonshak (ed.) *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. Taylor & Francis Ltd., London, 175-204.
- Cohen, Z. & Vonshak, A. (1991) Fatty acid composition of *Spirulina* and *Spirulina*-like cyanobacteria in relation to their chemotaxonomy. *Phytochemistry* **30**, 205-206.
- Collins, M.D., Samelis, J., Metaxopoulos, J. & Wallbanks, S. (1993) Taxonomic studies on some *Leuconostoc*-like organisms from fermented sausages: description of a new genus *Weissella* for the *Leuconostoc paramesenteroides* group of species. *Journal of Applied Bacteriology* **75**, 595-603.
- Corlett, D.A., Jr. & Brown, M.H. (1980) pH and acidity. In Silliker, J.H., Elliott, R.P., Baird-Parker, A.C., Bryan, F.L., Christian, J.H.B., Clark D.S., Olson, J.C., Jr. & Robers, T.A. (eds) *Microbial Ecology of Foods*, Vol. 1. *Factors Affecting Life and Death of Microorganisms*. Academic Press, Inc., New York, NY, 92-111.
- Cserhádi, T. & Forgács, E. (2001) Liquid chromatographic separation of terpenoid pigments in foods and food products. *Journal of Chromatography A* **936**, 119-137.
- De Caire, G.Z, De Cano, M.S., De Mulé, M.C.Z., Palma, R.M. & Colombo, K. (1997) Exopolysaccharide of *Nostoc muscorum* (Cyanobacteria) in the aggregation of soil particles. *Journal of Applied Phycology* **9**, 249-253.

- 
- De Caire, G.Z., Parada, J.L., Zaccaro, M.C. & De Cano M.M.S. (2000) Effect of *Spirulina platensis* biomass on the growth of lactic acid bacteria in milk. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **16**, 563-565.
- De Mulé, M.C.Z., De Caire, G.Z., & De Cano, M.S. (1996) Bioactive substances from *Spirulina platensis* (cyanobacteria). *International Journal of Experimental Botany* **58**, 93-96.
- Deák, T. (2006) *Élelmiszer-mikrobiológia*. Mezőgazda Kiadó, Budapest, pp. 72-74, 183.
- Delves-Broughton, J. (1990) Nisin and its uses as a food preservative. *Food Technology* **44**, 100-117.
- Desmazeaud, M.J. & Juge, M. (1976) Caractérisation de l'activité protéolytique et fractionnement des dipeptidases et des aminopeptidases de *Streptococcus thermophilus*. *Le Lait* **56**, 241-260.
- Doumenge, F. & Durand-Chastel, E. (1993) *Spirulina* algue de vie. *Bulletin de l'Institut Oceanographique (Monaco)*, **0** (Special Issue), 7-11.
- Duncan, D.B. (1975) t-tests and intervals for comparison suggested by the data. *Biometrics* **31**, 339-359.
- Estrada, J.E., Bescós P. & Villar Del Fresno, A.M. (2001) Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. *Il Farmaco* **56**, 497-500.
- European Pharmacopoeia (2005) *Europäisches Arzneibuch, 5.0*, Amtliche Deutsche Ausgabe, Allgemeine Methoden: 2.7.2 Mikrobiologische Wertbestimmung von Antibiotika, pp. 237-243.
- FDA (1998) *Bacteriological Analytical Manual*. 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, Maryland.
- Fern E. (2007) Marketing of functional foods: a point of view of the industry, international developments in science & health claims. *ILSI International Symposium on Functional Foods in Europe*.
- Food Insight Media Guide (1998) *Functional foods*. International Food Information Council Foundation, Washington DC.
- Fox, R.D., (1986) *Algaculture: la Spirulina, un espoir pour le monde de la faim*. Edisud, France, 319 pp.

- Friedrich, U. & Lenke, J. (2006) Improved enumeration of lactic acid bacteria in mesophilic dairy starter cultures by using multiplex quantitative real-time PCR and flow cytometry-fluorescence in situ hybridization. *Applied and Environmental Microbiology* **72**, 4163-4171.
- Galántai, K. (2008) Hagyományos és csökkentett élesztőtartalmú kenyerek jellemzőinek vizsgálata. *Diplomamunka*. Nyugat-magyarországi Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszer-tudományi Kar, Mosonmagyaróvár, 46 pp.
- Garcerá, M.J.G., Elferink, M.G.L., Driessen, A.J.M. & Konings, W.N. (1993) In vitro pore-forming activity of the lantibiotic nisin. Role of protonmotive force and lipid composition. *European Journal of Biochemistry* **212**, 417-422.
- Gibson, G.R. & Roberfroid, M.B. (1995) Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotic. *Journal of Nutrition* **125**, 1401-1412.
- Gilliland, S.E. & Speck, M.L. (1969) Biological response of lactic streptococci and lactobacilli to catalase. *Applied Microbiology* **17**, 797-800.
- Gilliland, S.E. & Speck, M.L. (1977) Antagonistic action of *Lactobacillus acidophilus* toward intestinal and foodborne pathogens in associative cultures. *Journal of Food Protection* **40**, 820-823.
- Glass, L. & Hedrick, T.I. (1976) Bacterial growth and vitamin content of milk. *Journal of Milk and Food Technology* **39**, 325-327.
- Gyenis, B., Szigeti, J., Molnár, N. & Varga, L. (2005) Use of dried microalgal biomasses to stimulate acid production and growth of *Lactobacillus plantarum* and *Enterococcus faecium* in milk. *Acta Agraria Kaposváriensis* **9** (2), 53-59.
- Hammes, W.P. & Vogel, R.F. (1995) The genus *Lactobacillus*. In Wood, B.J.B. & Holzapfel, W.H. (eds) *The Lactic Acid Bacteria*, Vol. 2. Blackie Academic and Professional, London, UK, pp. 19-54.
- Hardy, G. (2000) Nutraceuticals and functional foods: introduction and meaning. *Nutrition* **16**, 688-697.
- Hawkes, C. (2004): *Nutrition Labels and Health Claims: The global Regulatory Environment*. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 88 pp.
- Henrikson, R. (1994) *Microalga Spirulina*. Urano, Barcelona, 220 pp.

- 
- Hernández-Corona, A., Nieves, I., Meckes, M., Chamorro, G. & Barron, B.L. (2002) Antiviral activity of *Spirulina maxima* against herpes simplex virus type 2. *Antiviral Research* **56**, 279-285.
- Hilliam, M. (1998) The market for functional foods. *International Dairy Journal* **8**, 349-353.
- Hirahashi, T., Matsumoto, M., Hazeki, K., Saeki, Y., Ui, M. & Seya, T. (2002) Activation of the human innate immune system by *Spirulina*: augmentation of interferon production and NK cytotoxicity by oral administration of hot water extract of *Spirulina platensis*. *International Immunopharmacology* **2**, 423-434.
- Holm, F. (2004) Új funkcionális élelmiszer alkotórészek: a rosszindulatú daganatok és az oxidatív degradáció. *Édesipar* **5**, 137-146.
- Holzappel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J. & Schillinger, U. (2001) Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition* **73** (Suppl), 365-373.
- Hongsthong, A., Sirijuntarut, M., Prommeenate, P., Thammathorn, S., Bunnag, B., Cheevadhanarak, S. & Tanticharoen, M. (2007) Revealing differentially expressed proteins in two morphological forms of *Spirulina platensis* by proteomic analysis. *Molecular Biotechnology* **36**, 123-130.
- Hu, Q. (2004) Industrial production of microalgal cell-mass and secondary products – major industrial species. In Richmond, A. (ed.) *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Science Ltd., Oxford, UK, pp. 264-265.
- Huhtanen, C.N. & Williams, W.L. (1963) Factors which increase acid production in milk by lactobacilli. *Applied Microbiology* **11**, 20-22.
- International Dairy Federation (1996) Dairy starter cultures of lactic acid bacteria. Standard of identity. *International IDF Standard* No. 149, 1.
- International Life Sciences Institute (1999) Safety assessment and potential health benefits of food components based on selected scientific criteria. ILSI North America Technical Committee on Food Components for Health Promotion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **39**, 203-306.
- Iwasa, M., Yamamoto, M., Tanaka, Y., Kaito, M. & Adachi, Y. (2002) *Spirulina*-associated hepatotoxicity. *American Journal of Gastroenterology* **97**, 3212-3213.

- Jassby, A. (1988) *Spirulina*: a model for microalgae as human food. In Lembi, C.A. & Waaland, J.R. (eds) *Algae and Human Affairs*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 181-202.
- Johnson, E.C., Gilliland, S.E. & Speck, M.L. (1971) Characterization of growth stimulants in corn steep for lactic streptococci *Applied Microbiology* **21**, 316-320.
- Johnson, P.E. & Shubert, L.E. (1986a) Accumulation of mercury and other elements by *Spirulina* (Cyanophyceae). *Nutrition Reports International* **34**, 1063-1070.
- Johnson, P.E. & Shubert, L.E. (1986b) Availability of iron to rats from *Spirulina*, a blue-green alga. *Nutrition Research* **6**, 85-94.
- Kemény, S. & Deák, A. (2002) *Kísérletek Tervezése és Értékelése*. Műszaki Könyvkiadó, Budapest, pp. 180-218.
- Kennedy, H.E. & Speck, M.L. (1955) Studies on corn steep liquor in the nutrition of certain lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science* **38**, 208-216.
- Kennedy, H.E., Speck, M.L. & Aurand, L.W. (1955) Studies on a growth stimulant from corn steep using *Lactobacillus casei*. *Journal of Bacteriology* **70**, 70-77.
- Kessler, H.G. (1988a) Erhizten and Auswirkungen. In Kessler, H.G. (ed.) *Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik – Molkereitechnologie*. Verlag A Kessler, Freising, Germany, pp. 132-195.
- Kessler, H.G. (1988b) Technologie der Sauermilchprodukte – Milcherzeugnisse und Hydrokolloidanwendung. In Kessler, H.G. (ed.) *Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik – Molkereitechnologie*. Verlag A Kessler, Freising, Germany, pp. 404-426.
- Khan, Z., Bhadouria, P. & Bisen, P.S. (2005) Nutritional and therapeutic potential of *Spirulina*. *Current Pharmaceutical Biotechnology* **6**, 373-379.
- King, J.W. (2000) Advances in critical fluid technology for food processing. *Food Science and Technology Today* **14**, 186-191.
- Kiss, K. (1998) *Bevezetés az Algológiába*. ELTE Eötvös Kiadó, Budapest, pp. 36-50.
- Klaenhammer, T.R. (1988) Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie* **70**, 337-349.
- Kneifel, W., Czech, E. & Kopp, B. (2002) Microbial contamination of medicinal plants *Planta Medica* **68** (1), 5-15.
- Koburger, J.A., Speck, M.L. & Aurand, L.W. (1963) Identification of growth stimulants for *Streptococcus lactis*. *Journal of Bacteriology* **85**, 1051-1055.

- 
- Kolbert, M. & Shah, P.M. (2002) Diffusion or dilution: antimicrobial susceptibility testing in routine laboratories. *Journal of Laboratory Medicine* **26**, 420-424.
- Kotilainen, L., Rajalahti, R., Ragasa, C., & Pehu, E. (2006) Health enhancing foods: opportunities for strengthening the sector in developing countries. *Agriculture and Rural Development Discussion Paper 30*.
- Kramer, A. (1960) A rapid method for determining significance of differences from rank sums. *Food Technology* **11**, 576-581.
- Kreitlow, S., Mundt, S. & Lindequist, U. (1999) Cyanobacteria – a potential source of new biologically active substances. *Journal of Biotechnology* **70**, 61-63.
- Kurita, H., Tajima, O. & Fukimbara, T. (1979) Isolation and identification of nucleosides in *Chlorella* extract. *Nippon Nôgeikagaku Kaishi* **53**, 131-133.
- Kwak, N.S. & Jukes, D.J. (2001) Functional foods. Part 1. The development of a regulatory concept. *Food Control* **12**, 99-107.
- Kwei, C.K., Lewis, D.M., King, K.D., Donohue, W. & Neilan B.A. (2008) Therapeutic potential of *Spirulina* for the treatment of HIV. *Journal of Biotechnology* **136**, 580. (abstract)
- Lacquerbe, B., Busson, F. & Maigrot, M. (1970) On the mineral composition of two cyanophytes, *Spirulina platensis* (Gom) Geitler and *S. geitleri* J. de Toni. *Comptes Rendus, Académie des Sciences (Paris) Series D* **270**, 2130.
- Lanzanova, M., Mucchetti, G. & Neviani, E. (1993) Analysis of conductance changes as a growth index of lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science* **76**, 20-28.
- Lehota, J. (szerk.) (2001) *Élelmiszergazdasági Marketing*. Műszaki Könyvkiadó, Budapest, p. 190.
- Leifert, C., Workman, S. & Li, H. (1995) Antibiotic production and biocontrol activity by *Bacillus subtilis* CL27 and *Bacillus pumilis* CL45. *Journal of Applied Bacteriology* **78**, 97-108.
- Li, Z.Y., Guo, S.Y. & Li, L. (2003) Bioeffect of selenite on the growth of *Spirulina platensis* and its biotransformation. *Bioresource Technology* **89**, 171-176.

- Limsowtin, G.K.Y., Broome, M.C. & Powell, I.B. (2003) Lactic acid bacteria, taxonomy. In Roginski, H., Fuquay, P.F. & Fox, P.F. (eds) *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 3. Academic Press & Elsevier Science, Amsterdam, Boston, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo, pp. 1470-1478.
- Lu, H.K., Hsieh, C.C., Hsu, J.J., Yang, Y.K. & Chou, H.N. (2006) Preventive effects of *Spirulina platensis* on skeletal muscle damage under exercise-induced oxidative stress. *European Journal of Applied Physiology* **98**, 220-226.
- Madhava, C., Bath, V.B., Kiranmai, G., Reddy, M.N., Reddanna, P. & Madyastha, K.M. (2000) Selective inhibition of cyclooxygenase-2 by C-phycoyanin, a biliprotein from *Spirulina platensis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **277**, 599-603.
- Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság (2004) Savanyú tejtermékek. In *Magyar Élelmiszerkönyv – 2-51/03 Tej és tejtermékek*. Magyar Élelmiszerkönyv Bizottság, Budapest, pp. 21-24.
- Mahajan, G. & Kamat, M. (1995) Gamma-linolenic acid production from *Spirulina platensis*. *Applied Microbiology and Biotechnology* **43**, 466-469.
- Mao, T.K., Van de Water, J. & Gershwin, M.E., (2005) Effects of a *Spirulina*-based dietary supplement on cytokine production from allergic rhinitis patients. *Journal of Medicinal Food* **8**, 27-30.
- Marugg, J.D. (1991) Bacteriocins, their role in developing natural products. *Food Biotechnology* **5**, 305-312.
- Mäyrä-Mäkinen, A. & Bigret, M. (1998) Industrial use and production of lactic acid bacteria. In Salminen, S. & Von Wright, A. (eds), *Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects*. Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 75-76.
- Mazokopakis, E.E., Karefilakis, C.M., Tsartsalis, A.N., Milkas, A.N. & Ganotakis, E.S. (2008) Acute rhabdomyolysis caused by *Spirulina* (*Arthrospira platensis*). *Phytomedicine* **15**, 525-527.
- Medina, L.M. & Jordano, R. (1995) Population dynamics of constitutive microbiota in BAT type fermented milk products. *Journal of Food Protection* **58**, 70-76.



- Mendiola, J.A. (2008) Extracción de compuestos bioactivos de microalgas mediante fluidos supercríticos. *Tesis Doctoral*. Universidad Autónoma De Madrid, Madrid, 145 pp.
- Mendiola, J.A., Jaime, L., Santoyo, S., Reglero, G., Cifuentes, A., Ibáñez, E., Señoráns, F.J. (2007) Screening of functional compounds in supercritical fluid extracts from *Spirulina platensis*. *Food Chemistry* **102**, 1357-1367.
- Menrad, K. (2003) Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering* **56**, 181-188.
- Miranda, M.S., Cintra, R.G., Barros S.B.M. & Filho, J.M. (1998) Antioxidant activity of the microalga *Spirulina maxima*. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **31**, 1075-1079.
- Mishima, T., Murata, J. & Toyoshima, M. (1998) Inhibition of tumor invasion and metastasis by calcium spirulan (CASP), a novel sulfated polysaccharide derived from a bluegreen alga, *Spirulina platensis*. *Clinical and Experimental Metastasis* **16**, 541-550.
- Mollet, B. & Rowland, I. (2002) Functional foods: at the frontier between food and pharma. *Current Opinion in Biotechnology* **13**, 483-485.
- Molnár, N., Gyenis, B. & Varga, L. (2005) Influence of a powdered *Spirulina platensis* biomass on acid production of lactococci in milk. *Milchwissenschaft* **60**, 380-382.
- Molnár, P. (1991) *Élelmiszerek Érzékszervi Vizsgálata*. Akadémia Kiadó, Budapest, pp. 134-135.
- Morist, A., Montesinos, J.L., Cusido, J.A. & Godia, F. (2001) Recovery and treatment of *Spirulina platensis* cells cultured in a continuous photobioreactor to be used as food. *Process Biochemistry* **37**, 535-547.
- MSZ ISO 15214 (2005) Élelmiszerek és takarmányok mikrobiológiája. Horizontális módszer a mezofil tejsavtermelő baktériumok megszámlálására. Telepszámlálási technika 30°C-on. *Magyar Szabvány*. Magyar Szabványügyi Testület, Budapest, 10 pp.
- Naidu, K.A., Sarada, R., Manoj, G., Khan, M.Y., Swamy, M.M., Viswanatha, S., Murthy, K.N., Ravishankar, G.A. & Srinivas, L. (1999) Toxicity assessment of phycocyanin: a blue colorant from blue green alga *Spirulina platensis*. *Food Biotechnology* **13**, 51-66.

- Nath, K.R. & Wagner, S.J. (1973) Stimulation of lactic acid bacteria by a *Micrococcus* isolate: evidence for multiple effects. *Applied Microbiology* **26**, 49-55.
- Nelissen, B., Wilmotte, A., De Baere, R., Haes, F., Van De Peer, Y., Neefs, J.M. & De Wachter, R. (1992) Phylogenetic study of cyanobacteria on the basis of 16S ribosomal RNA sequences. *Belgian Journal of Botany* **125**, 210-213.
- Okigbo, L.M., Oberg, C.J. & Richardson, G.H. (1985) Lactic culture activity tests using pH and impedance instrumentation. *Journal of Dairy Science* **68**, 2521-2526.
- Ouattara, B., Simard, R.E., Holley, R.A., Piette, G.J.P. & Bégin, A. (1997) Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology* **37**, 155-162.
- Ozdemir, G., Karabay, N.U., Dalay, M.C. & Pazarbasi, B. (2004) Antibacterial activity of volatile components and various extracts of *Spirulina platensis*. *Phytotherapy Research* **18**, 754-757.
- Ördög, V. (1998) Prokariota algák. In Turcsányi, G. (ed.) *Mezőgazdasági Növénytan*. Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó, Budapest, pp. 189-190.
- Ötles, S. & Pire, R. (2001) Fatty acid composition of *Chlorella* and *Spirulina* microalgal species. *Journal of AOAC International* **84**, 1708-1714.
- Parada, J.L., De Caire, G.Z., De Mulé, M.C.Z. & De Cano, M.M.S. (1998) Lactic acid bacteria growth promoters from *Spirulina platensis*. *International Journal of Food Microbiology* **45**, 225-228.
- Pritchard, G.G. & Coolbear, T. (1993) The physiology and biochemistry of the proteolytic system in lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* **12**, 179-206.
- Pulay, G. (1954) Baktériumellenes anyagok a tejben és jelentőségük a tejiparban. *Élelmezési Ipar* **8**, 369-375.
- Pulay, G., Harmat, L. & Németh, I. (1956) Kísérletek a sajtok vajsavas puffadásának meggátolására. I. *Élelmezési Ipar* **10**, 40-43.
- Pulz, O. (2008) Microalgal biotech companies development in the world. *4<sup>th</sup> Symposium on Microalgae and Seaweed Products in Agriculture*, Mosonmagyaróvár, Hungary, June 30, 2008.
- Reichart, O. (2005) *Kísérlettervezés és Értékelés a Mikrobiológiai Gyakorlatban*. Budapest, 111 pp.

- 
- Richmond, A. (1988) *Spirulina*. In Borowitzka, M.A. & Borowitzka, L.J. (eds), *Microalgal Biotechnology*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp. 85-121.
- Roberfroid, M.B. (2000a) A European consensus of scientific concepts of functional foods. *Nutrition* **16**, 689-691.
- Roberfroid, M.B. (2000b) Concepts and strategy of functional food science: the European perspective. *The American Journal of Clinical Nutrition* **71**, 1660-1664.
- Romay, C., Armesto, J., Ramirez, D., González, R., Ledon, N. & García, I. (1998) Antioxidant and anti-inflammatory properties of C-phycoerythrin from blue-green algae. *Inflammation Research* **47**, 36-41.
- Sandine, W.E., Speck, M.L. & Aurand, L.W. (1956) Identification of constituent amino acids in a peptide stimulatory for lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science* **39**, 1532-1541.
- Santoyo, S., Herrero, M., Señoráns, F.J., Cifuentes, A., Ibáñez, E. & Jaime, L. (2006) Functional characterization of pressurized liquid extracts from *Spirulina platensis*. *European Food Research and Technology* **224**, 75-81.
- Schillinger, U. & Lücke, F.K. (1989) Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Applied and Environmental Microbiology* **55**, 1901-1906.
- Schleifer, K.H., Kraus, J., Dvorak, C., Kilpper-Bälz, R., Collins, M.D. & Fischer, W. (1985) Transfer of *Streptococcus lactis* and related streptococci to the genus *Lactococcus* gen. nov. *Systematic and Applied Microbiology* **6**, 183-195.
- Shirota, M., Nagamatsu, N. & Takechi, Y. (1964) Method for cultivating lactobacilli. *Patent* No. US 3123538.
- Singh, I.P., Bharate, S.B. & Bhutani, K.K. (2005) Anti-HIV natural products. *Current Science* **89**, 269-290.
- Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B. & Lugasi, A. (2008) Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance – a review. *Appetite* **51**, 456-467.
- Sloan, A.E. (2000) The top ten functional food trends. *Food Technology* **54**, 33-62.
- Sloan, A.E. (2002) The top 10 functional food trends. The next generation. *Food Technology* **56**, 32-57.
- Sloan, A.E. (2004) The top ten functional food trends. *Food Technology* **58**, 28-51.

- Slotton, D.G., Goldman, C.R. & Franke, A. (1989) Commercially grown *Spirulina* found to contain low levels of mercury and lead. *Nutrition Reports International* **40**, 1165-1172.
- Smith, S.J., Hillier, A.J., Lees, G.J. & Jago, G.R. (1975) The nature of the stimulation of growth of *Streptococcus lactis* by yeast extract. *Journal of Dairy Research* **42**, 123-138.
- Spence, J.T. (2006) Challenges related to the composition of functional foods. *Journal of Food Composition and Analysis* **19**, S4-S6.
- Sprince, H. & Woolley, D.W. (1945) The occurrence of the growth factor streptogenin in purified proteins. *Journal of the American Chemists' Society* **67**, 1734-1736.
- Springer, M., Pulz, O., Szigeti, J., Ördög, V. & Varga, L. (1998) Verfahren zur Herstellung von biologisch hochwertigen Sauermilcherzeugnissen. Patent No. DE 196 54 614 A 1, 7 pp.
- Stanton, C., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F. & Van Sinderen, D. (2005) Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Current Opinion in Biotechnology* **16**, 198-203.
- Stengel, E. (1970) Anlagentypen und Verfahren der technischen Algenmassenproduktion. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* **83**, 589-606.
- Subhashini, J., Mahipal, S.V.K., Reddy, M.C., Reddy, M.M., Rachamalla, A. & Reddanna, P. (2004) Molecular mechanisms in c-phycoyanin induced apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line K562. *Biochemical Pharmacology* **68**, 453-462.
- Sugihara, T.F. & Kline, L. (1975) Further studies on a growth medium for *Lactobacillus sanfrancisco*. *Journal of Milk and Food Technology* **38**, 667-672.
- Szakály, S. (1999) A savanyított tejkészítmények szerepe az emberi egészség megóvásában. *Tejgazdaság*, **59** (2), 15-18.
- Szakály, S. (szerk.) (2001) *Tejgazdaságtan*. Dinasztia Kiadó Budapest, pp. 84, 137, 182-185.
- Szekér, K. (2007) Tejsavbaktériumok és élelmiszer-eredetű romlás- és kórokozó baktériumok versengő kölcsönhatásának vizsgálata. *Doktori (PhD) Értekezés*. Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest, 112 pp.
- Szente, V., Széles, Gy., Szigeti, O. & Szakály Z. (2007) A fogyasztói magatartástrendek elemzése a fő élelmiszer-fejlesztési irányok esetében. *A Hús* **2**, 103-109.

- 
- Tagg, J.R., Dajani, A.S. & Wannamaker, L.W. (1976) Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Bacteriological Reviews* **40**, 722-756.
- Thomas, T.D. & Mills, O.E. (1981) Proteolytic enzymes of starter bacteria. *Netherlands Milk and Dairy Journal* **35**, 255-273.
- Unger, A. (1981) A tejipari szintenyészetek készítése. In Balatoni, M. & Ketting, F. (eds) *Tejipari Kézikönyv*. Mezőgazda Kiadó, Budapest, pp. 239-255.
- Vágási, M. (2001) *Újtermék-marketing*. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, p. 17.
- Varga, L. (1999) Effect of a cyanobacterial biomass enriched with trace elements on thermophilic dairy starter cultures. *PhD Dissertation*. Pannon University of Agricultural Sciences, Mosonmagyaróvár, 148 pp.
- Varga, L., Molnár, N. & Szigeti, J. (2005) The potential of *Spirulina (Arthrospira) platensis* to accumulate trace elements, and its dietary implications. *Acta Agronomica Óváriensis* **47** (1), 53-60.
- Varga, L., Szigeti, J., Kovács, R., Földes, T. & Buti, S. (2002) Influence of a *Spirulina platensis* biomass on the microflora of fermented ABT milks during storage. *Journal of Dairy Science* **85**, 1031-1038.
- Varga, L., Szigeti, J. & Ördög, V. (1999) Effect of a *Spirulina platensis* biomass and that of its active components on single strains of dairy starter cultures. *Milchwissenschaft* **54**, 187-190.
- Vonshak, A. (1997) Appendices. In Vonshak, A. (ed.) *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-biology and Biotechnology*. Taylor & Francis Ltd., London, pp. 213-226.
- Wang, L., Pan, B., Sheng, J., Xu, J. & Hu, Q. (2007) Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction *Food Chemistry* **105**, 36-41.
- Wang, Z.P. & Zhao, Y. (2005) Morphological reversion of *Spirulina (Arthrospira) platensis* (Cyanophyta): from linear to helical. *Journal of Phycology* **41**, 622-628.
- Ward, L.J.H., Davey, G.P., Heap, H.A. & Kelly, W.J. (2003) *Lactococcus* spp. In Roginski, H., Fuquay, P.F. & Fox, P.F. (eds) *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Vol. 3. Academic Press & Elsevier Science, Amsterdam, Boston, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo, pp. 1511-1516.

- Webb, L.E. (1982) Detection by Warburg manometry of compounds stimulatory to lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Research* **49**, 479-486.
- Woese, C.R. (1987) Bacterial evolution. *Microbiological Reviews* **51**, 221-271.
- Wood, B.J.B. & Holzapel, W.H. (eds) (1995) *The Genera of Lactic Acid Bacteria*, 1st ed. Blackie Academic and Professional, Glasgow, UK, 420 pp.
- Wood, B.J.B. & Warner, P.J. (eds) (2003) *Genetics of Lactic Acid Bacteria*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, NY, 396 pp.
- Xue, C., Hu, Y., Saito, H., Zhang, Z., Li, Z., Cai, Y., Ou, C., Lin, H. & Imbs, A.B. (2002) Molecular species composition of glycolipids from *Spirulina platensis*. *Food Chemistry* **77**, 9-13.
- Young, Y. (2000) Functional foods and the European consumer. In Buttriss, J. & Saltmarsh, M. (eds), *Functional foods. II. Claims and evidence*. The Royal Society of Chemistry, London, UK.
- Zielke, H., Kneifel, H., Webb, L.E. & Soeder, C.J. (1978) Stimulation of lactobacilli by an aqueous extract of the green alga *Scenedesmus acutus* 276-3a. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology* **6**, 79-86.
- Zuraw, E.A., Speck, M.L., Aurand, L.W. & Tove, S.B. (1960) Purification of stimulants from condensed corn-fermentation solubles active for *Lactobacillus casei* in milk. *Journal of Bacteriology* **80**, 457-463.

---

**Internetes források:**

- url<sup>1</sup>  
<http://141.150.157.117:8080/prokPUB/index.htm> Release 3.20
- url<sup>2</sup>  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=357682&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>
- url<sup>3</sup>  
<http://bioinfo.science.cmu.ac.th/Spirulina/>
- url<sup>4</sup>  
[www.drak.de/images/Speziell/Spirulina.jpg](http://www.drak.de/images/Speziell/Spirulina.jpg), [spirulina.net.pl/img/spirulina.jpg](http://spirulina.net.pl/img/spirulina.jpg)
- url<sup>5</sup>  
<http://www.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-g127.html>
- url<sup>6</sup>  
<http://www.earthrise.com/home.asp>
- url<sup>7</sup>  
[www.ahpa.org/guidelines.htm](http://www.ahpa.org/guidelines.htm)
- url<sup>8</sup>  
[http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/prodnatur/legislation/docs/eq-paq\\_table\\_1-eng.php](http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/prodnatur/legislation/docs/eq-paq_table_1-eng.php)
- url<sup>9</sup>  
[http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/03/Aug03/081803/96N-0417\\_emc-000239-01.pdf](http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/03/Aug03/081803/96N-0417_emc-000239-01.pdf)
- url<sup>10</sup>  
[www.hc-sc.gc.ca](http://www.hc-sc.gc.ca) Health Canada (2004) Final policy paper on nutraceuticals/functional foods and health claims in foods
- url<sup>11</sup>  
<http://www.freepatentsonline.com/7326558.html?query=Lactococcus+and+Spirulina&stemming=o>

## MELLÉKLET

A vizsgálatok során alkalmazott tápközegek összetételét mutatom be a **Mellékletben**. A tápközegek rövid elnevezésük alapján betűrendbe szedve követik egymást. Az összetevők g/dm<sup>3</sup> mennyiségre vonatkoznak. Általánosságban elmondható, hogy a tápközegek sterilizése 121°C-on 15 percig történt, ahol eltértünk ezektől a paramétereiktől, ott külön feltüntettem a hőkezelés értékeit.

### **BP, Staphylococcus Selective Agar acc. to Baird-Parker**

Kazeinpepton 10,00;  
Húskivonat 5,00;  
Élesztőkivonat 1,00;  
Nátrium-piruvát 10,00;  
Glicin 12,00;  
Lítium-klorid 5,00;  
Agar agar 20,00;

*Adalékanyag:*

Telluritos tojássárgája emulzió (5%-nyi mennyiségben).

### **BPLS, Brillantzöld–fenolvörös–laktóz–szacharóz agar**

Pepton húsból 5,0;  
Pepton kazeinből 5,0;  
Húskivonat 5,0;  
Nátrium-klorid 3,0;  
Dinátrium-hidrogén-foszfát 2,0;  
Laktóz 10,0;  
Fenolvörös 0,08;  
Brillantzöld 0,0125;  
Agar-agar 12,0.

Sterilizés utáni pH: 6,9 ± 0,2 25°C-on. A lemezek áttetszőek és vörösek.

### **CC, ChromoCULT® Coliform Agar**

Pepton 5,0;  
Kálium-klorid 7,5;  
MOPS 10,0;  
Epesók 1,15;  
Propionát 0,5;  
Agar-agar 10,0;  
6-klór-indoxil-beta-D-galaktopiranozid 0,15;  
Izopropil-beta-D-tiogalaktopiranozid 0,1;  
5-bróm-4-klór-3-indoxil-beta-D-glükoronsav 0,1.

### **Fiziológiás sóoldat**

NaCl 8,5;

A decimális hígítási sorhoz kémcsövekbe kiadagolva (9 cm<sup>3</sup>/kémcső).



**GYP, glükóz-élesztőkivonat-pepton agar**

Glükóz 10,0;  
Élesztőkivonat 10,0;  
Bacto pepton 10,0;  
Agar-agar 20,0.

**M17 leves és agar**

Pepton szójaliszt 5,0;  
Pepton hús 2,5;  
Pepton kazein 2,5;  
Élesztőkivonat 2,5;  
Húskivonat 5,0;  
Laktóz-monohidrát 5,0;  
Aszkorbinsav 0,5;  
Nátrium- $\beta$ -glicerofoszfát 19,0;  
Magnézium-szulfát 0,25;  
Agar-agar 12,75 (M-17 táplevesben nincs jelen).  
Sterilizés utáni pH  $7,2 \pm 0,2$  25°C-on. A tápközeg áttetsző és barna színű.

**MKTTn, Muller-Kauffmann Tetrathionate-Novobiocin Broth**

Húskivonat 3,0;  
Kazein pepton 9,6;  
Nátrium-klorid 2,6;  
Kalcium-karbonát 39,7;  
Nátrium-tioszulfát vízmentes 30,5  
Marhaepe 4,75;  
Brillantzöld 0,0096;  
Novobiocin 0,040.  
*Kiegészítés:*  
Kálium-jodid 5,0; jód 4,0; 20ml vízben oldva.

**MRS-L leves és agar**

Kazeinpepton 10;  
Húskivonat 9;  
Élesztőkivonat 4;  
Laktóz 20;  
Dikálium-hidrogén-foszfát 2;  
Tween® 80 1 cm<sup>3</sup>  
Diammónium-hidrogén-citrát 2;  
Nátrium-acetát 5;  
Magnézium-szulfát 0,2;  
Mangán-szulfát 0,05;  
Agar-agar 14 (MRS táplevesben nincs jelen).  
Sterilizés utáni pH  $6,2 \pm 0,2$  25°C-on. A tápközeg áttetsző és barnás színű.

**Negyederősségű Ringer-oldat**

Nátrium-klorid 2,25;  
Kálium-klorid 0,105;  
Kalcium-klorid (vízmentes) 0,06;  
Nátrium-hidrogénkarbonát 0,05.

**PC, Plate Count agar**

Pepton kazeinből 5;  
Élesztőkivonat 2,5;  
D(+)-glükóz 1,0;  
Agar-agar 14,0;

Sterilizés utáni pH  $7,0 \pm 0,2$  25°C-on. A táptalaj áttetsző és sárgás színű.

**PDA, Potato dextrose agar**

Burgonyafőzet 4,0 (200 g burgonyából készítve);  
D(+)-glükóz 20,0;  
Agar-agar 15,0.

**Reinforced Clostridial Medium (RCM)**

Húskivonat 10,0;  
Pepton 5,0;  
Élesztőkivonat 3,0;  
D(+)-glükóz 5,0;  
Keményítő 1,0;  
Nátrium-klorid 5,0;  
Nátrium-acetát 3,0;  
L-ciszteinium-klorid 0,5;  
Agar-agar 0,5.

Sterilizés utáni pH:  $6,8 \pm 0,2$  25°C-on. A kémcsövekben a táptalaj áttetsző és sárgás.

**RVS leves, Salmonella Enrichment Broth acc. to Rappaport Vassiliadis**

Pepton szójalisztből 4,5;  
Magnézium-klorid hexahidrát 29,0;  
Nátrium-klorid 8,0;  
Dikálium-hidrogén-foszfát 0,4;  
Káliumdihidrogén-foszfát 0,6;  
Malachitzöld 0,036.

pH:  $5,2 \pm 0,2$  25°C-on. A tápleves áttetsző és sötétkék.

**Tripton-szója agar (TSA)**

Pepton kazeinből 15,0;  
Pepton szójából 5,0;  
Nátrium-klorid 5,0;  
Agar-agar 15,0.

Sterilizés utáni pH:  $7,3 \pm 0,2$  25°C-on. Az elkészítés után a tápközeg áttetsző és sárgásbarna.

---

**VRBG, kristályibolya-neutrálvörös-epe-glükóz agar**

Pepton 7,0;  
Élesztőkivonat 3,0;  
Nátrium-klorid 5,0;  
Epesavas só 1,5;  
Glükóz 10,0;  
Neutrálvörös 0,03;  
Kristályibolya 0,002;  
Agar agar 12,0.

**XLD, xilóz-lizin-dezoxikolát**

Élesztőkivonat 3,0;  
Nátrium-klorid 5,0;  
D(+)-xilóz 3,5;  
Laktóz 7,5;  
Szacharóz 7,5;  
L(+)-lizin 5,0;  
Nátrium-dezoxikolát 2,5;  
Nátrium-tioszulfát 6,8;  
Ammónium-vas(III)-citrát 0,8;  
Fenolvörös 0,08;  
Agar-agar 13,5.

Nem autoklávozható. pH:  $7,4 \pm 0,2$  25°C-on. A lemezek áttetszők és vörös színűek.

**YGC, élesztő-glükóz-chloramphenicol agar**

Élesztő 5;  
D(+)-glükóz 20;  
Chloramphenicol 0,1;  
Agar-agar 14,9;

Sterilezés utáni pH  $7,0 \pm 0,2$  25°C-on. A táptalaj áttetsző és sárgás színű.