



Élelmiszertudományi Doktori Iskola
Mikrobiológia és Biotechnológia Tanszék

**FERMENTÁLT TEJKÉSZÍTMÉNYEK ELŐÁLLÍTÁSÁNAK
LEHETŐSÉGEI TEJCUKORÉRZÉKENY
ÉS GALAKTOZÉMIÁS BETEGEK SZÁMÁRA**

Készítette:
Varga Zsuzsa

Témavezető:
Juhászné Dr. Román Mariann

Budapest, 2007.

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

tudományága: Élelmiszertudományok

vezetője: Dr. Fekete András
egyetemi tanár, DSc
BCE, Élelmiszertudományi Kar,
Fizika-Automatika Tanszék

Témavezető: Juhászné Dr. Román Mariann
egyetemi adjunktus, CSc
BCE, Élelmiszertudományi Kar
Mikrobiológia és Biotechnológia Tanszék

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, azért az értekezés nyilvános vitára bocsátható.

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

A Budapesti Corvinus Egyetem Élettudományi Területi Doktori Tanácsának 2007. február 13.-ki határozatában a nyilvános vita lefolytatására az alábbi bíráló Bizottságot jelölte ki:

BÍRÁLÓ BIZOTTSÁG:

Elnöke

Farkas József, MHAS

Tagjai

Deák Tibor, DSc

Gaál Ödön, CSc

Biacs Péter, DSc

Kontraszti Mariann, PhD

Opponensek

Beczner Judit, CSc

Antal Magda, Dr. med. PhD

Titkár

Farkas Csilla, PhD

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	1
2. Irodalmi áttekintés	3
2.1. A tehéntej összetétele, jellemzése táplálkozásélettani szempontból	3
2.1.1. A tej fehérjetartalma és aminosav összetétele	3
2.1.2. A tej szénhidrát tartalma	4
2.1.2.1. Laktóz	4
2.1.2.2. Laktulóz	6
2.1.3. A tej lipid tartalma	6
2.1.4. A tej vitaminjai és ásványi anyagai	7
2.2. Savanyított tejkészítmények jellemzése	8
2.2.1. A savanyított tejkészítmények főbb típusai	9
2.2.2. A savanyított tejkészítmények előállításához használt kultúrák jellemzése és a technológia rövid ismertetése	9
2.2.2.1. Termofil tejsavbaktériumokkal készített termékek	11
2.2.2.2. Vegyes (tejsavas és alkoholos) fermentációval készült termékek	11
2.2.2.3. Mezofil tejsavbaktériumokkal készített termékek	15
2.2.2.4. Probiotikus baktériumokkal készített termékek	16
2.2.3. A savanyított tejkészítmények összetétele	20
2.2.4. A savanyított tejkészítmények táplálkozásélettani hatásai	24
2.3. Laktózintolerancia	26
2.3.1. A laktóz bontása, a laktáz enzim	26
2.3.2. A laktózintolerancia patomechanizmusa és tünetei	27
2.3.3. A laktázelégtelenség típusai	28
2.3.4. A laktózmalabszorpció etiológiája és földrajzi eloszlása	28
2.3.5. A laktázdeficiencia diagnosztikus lehetőségei	30
2.3.6. A laktózintolerancia terápiás lehetőségei	32
2.3.7. Laktózmentes tejkészítmények előállítása	33
2.4. Galaktozémia	35
2.4.1. A galaktozémia változatai	35
2.4.2. A galaktozémia felismerése, szűrése	37
2.4.3. A galaktozémia kezelése: speciális diéta egész életen át	38

2.4.3.1. A naponta fogyasztható galaktóz mennyisége és a szervezet galaktóz termelő képessége	38
2.4.3.2. Élelmiszerek galaktóztartalmának értékelése, beilleszthetőségük a galaktozémias étrendbe	40
2.4.3.3. Kísérleti tejkészítmények galaktozémiasok számára	42
3. Anyagok és módszerek	43
3.1. Alapanyagok	43
3.1.1. A laktózmentes fermentált tejkészítmények előállításához használt alapanyag	43
3.1.2. A csökkentett galaktóztartalmú fermentált tejkészítmények előállításához használt alapanyagok	43
3.2. Mikrobiológiai vizsgálati anyagok és módszerek	44
3.2.1. A fermentációkhoz használt mikroorganizmusok	44
3.2.2. A probiotikus törzsek szénhidrátfermentációjának ellenőrzése	45
3.2.3. Antibiotikum érzékenységi próba	45
3.2.4. Inokulum készítése	46
3.2.5. Inokulálás	46
3.2.6. Fermentációk	47
3.2.6.1. Fermentációk laktózhidrolizált tej alapanyaggal	47
3.2.6.2. Fermentációk tej-tápszer keverékekkel	47
3.2.7. Joghurt sejtszámának meghatározása Breed-féle módszerrel	48
3.2.8. A kefir összes élősejt számának meghatározása lemezöntéssel	50
3.2.9. A szaporodási görbe felvétele	50
3.3. Kémiai vizsgálati anyagok és módszerek	50
3.3.1. A minta savfokának, illetve pH értékének meghatározása	50
3.3.2. Enzimes analitikai vizsgálatok	51
3.3.2.1. Laktóz és galaktóz tartalom meghatározása	51
3.3.2.2. Glükóz tartalom meghatározása	53
3.3.2.3. D(-)- és L(+)-tejsav tartalom meghatározása	55
3.3.3. Aromaanyagok meghatározása gázkromatográfiával joghurt mintákból	57
3.4. Érzékszervi bírálat	58
3.5. Statisztikai értékelés	58
4. Eredmények és értékelésük	59
4.1. A szénhidrát erjesztési próbák eredményei	59

4.2. Az antibiotikum érzékenységi vizsgálat eredményei	59
4.3. Joghurtkultúrával és probiotikus kultúrákkal végzett fermentációk eredményei	61
4.3.1. Szaporodási görbék	61
4.3.2. Savfokolási görbék	63
4.3.3. Érzékszervi bírálat és az aromakomponensek elemzésének eredményei	65
4.3.4. A laktóz és a galaktóz tartalom alakulása	66
4.4 Kefir kultúrákkal végzett fermentációk eredményei	67
4.4.1. Laktózhidrolizált tej alapanyaggal, H047 jelű kefir kultúrával végzett fermentációk eredményei	67
4.4.1.1. Szaporodási görbék	67
4.4.1.2. A pH érték alakulása	69
4.4.1.3. A galaktóztartalmak alakulása	69
4.4.1.4. Az érzékszervi bírálatok eredményei	71
4.4.1.5. A D(-) és L(+)-tejsav tartalom mennyiségének alakulása	72
4.4.1.6. Laktózhidrolizált tej alapanyaggal végzett fermentációk eredményeinek összefoglalása	73
4.4.2. Tej-tápszer keverékek alapanyaggal, H047 jelű kefir kultúrával végzett fermentációk eredményei	74
4.4.2.1. Szaporodási görbék	74
4.4.2.2. A pH értékek alakulása	76
4.4.2.3. Galaktóz tartalmak alakulása tej-tápszer keverékekben különböző hőfokokon	78
4.4.2.4. Érzékszervi bírálat eredményei	80
4.4.2.5. D(-)- és L(+)-tejsav mennyiségének alakulása tej-tápszer keverékekben	81
4.4.3. KC1 kefir kultúrával végzett fermentációk eredményei és azok hasonlítása a H047 kultúrával végzett fermentációk eredményeihez	83
4.4.3.1. A kétféle kefir kultúrával végzett fermentációk glükóz és galaktóz tartalmainak összehasonlítása laktózhidrolizált tejben	84
4.4.3.2. A kétféle kefir kultúrával végzett fermentációk glükóz és galaktóz tartalmainak összehasonlítása tej-tápszer keverékekben	86
4.4.3.3. A kétféle kefir kultúrával végzett fermentációk pH értékeinek összehasonlítása	88

4.4.3.4. A kétféle kefir kultúrával végzett fermentációk érzékszervi bírálati eredményeinek összehasonlítása	89
4.5. Új tudományos eredmények	91
5. Következtetések és javaslatok	92
6. Összefoglalás	93
Summary	96
Mellékletek	99
M1 Irodalomjegyzék	100
M2 Egyéb mellékletek	108

1. Bevezetés

A kiegyensúlyozott táplálkozás fontos elemei a tej, a tejkészítmények és a tejtermékek. Táplálkozásélettani jelentőségük, szerepük a mindennapi étkezésben közismert. Az emberi szervezet számára nélkülözhetetlen aminosavak, teljesértékű fehérjék, zsírsavak, ásványi anyagok és vitaminok bőséges forrásai. Szerepük van a bélflóra kényes egyensúlyának fenntartásában, a szervezet kalcium ellátottságának biztosításában, egyes irodalmi források szerint bizonyos rákfajták előfordulási gyakoriságának csökkentésében is.

Sajnos a tej és tejtermékek nyújtotta pozitív táplálkozásélettani hatásokat nem élvezheti mindenki, mert egyes betegségek, így a laktózintolerancia és a galaktozémia következtében fogyasztásukat kisebb-nagyobb mértékben korlátozni kell, vagy teljesen ki kell zárni az étrendből. Mindkét betegség káros tünetei megszüntethetők az egész életen át tartó diétával.

A diéta lényege az egyéni toleranciának megfelelő, alacsony tejcukor, illetve galaktóz bevitel. A szigorú étrendet változatosabbá lehetne tenni olyan új típusú termékek előállításával, amelyek egyáltalán nem, vagy csak csekély mértékben tartalmazzák ezeket a szénhidrátokat.

Munkám során laktózmentes és galaktóz szegény tejkészítmények előállításának lehetőségeit vizsgáltam.

Célkitűzésem az volt, hogy mikroorganizmusok segítségével olyan fermentált tejkészítményeket állítsak elő, amelyek laktóz és galaktóz tartalma nem haladja meg az orvosi gyakorlatban meghatározott, a betegek által még tolerálható határértékeket. Laktóz esetében ez az érték 0,1g laktóz 100 cm³ termékben.

Galaktozémias diétában a napi összes galaktóz bevitel – a galaktozémia típusától, az életkortól, a beteg egyéni toleranciájától függően – maximum 500 mg lehet. Ezért a fermentált termékek galaktóz tartalmát jelentősen kisebb értékre kellett beállítani, mint 500mg/100cm³.

Nem elegendő csak pontosan 500 mg-ra, vagy közvetlenül ez alá csökkenteni a galaktóz tartalmat, mert a beteg által más élelmiszerekkel elfogyasztott kis mennyiségű szabad, vagy rejtett formájú galaktóz ehhez az értékhez hozzáadódva, már meghaladhatja a napi megengedett mennyiséget s megjelenének a nemkívánatos, súlyos tünetek.

Bár a fermentációkhoz olyan mikroorganizmusokat választottam ki, amelyeknek jó a galaktóz bontó képessége, feltételeztem, hogy ezek a mikroorganizmusok először a glükózt használják energiaforrásul, és csak amikor ennek mennyisége csökken, akkor bontják nagyobb ütemben a galaktózt. Ennek következtében elhúzódhat a fermentáció időtartama, ami kellemetlen íz- és aromaanyagok képződését vonhatja maga után. A csökkentett galaktóztartalmú fermentált

készítmények esetében ezért figyelemmel kísértem a galaktóz mellett a glükóz tartalom csökkenésének ütemét is.

A galaktóz tartalom megfelelő mértékű lecsökkentése mellett törekedtem a termékek kellemes érzékszervi tulajdonságainak kialakítására is. A termékek ízét, aromáját a tejsav mennyisége is befolyásolja, ezért az összes savtartalom mérése mellett a keletkező tejsav mennyiségét is meghatároztam. A fermentációk a csökkentett galaktóztartalmú minták esetében a normál tejipari technológiához képest eltérő feltételek mellett zajlottak (magasabb hőfok, hosszabb fermentációs idő, tej alapanyag helyett tej és tápszer keverékek használata). A megváltoztatott körülmények befolyásolhatják a tejsav kétféle módosulatának mennyiségét a termékben. Ezért a csökkentett galaktóz tartalmú készítményekben vizsgáltam az összes tejsav mennyiségét, valamint D (-) és az L (+) tejsav arányát is. Eltérő élettani hatásuk különösen indokolja ezt, mert az L(+)-tejsavat képes metabolizálni az emberi szervezet, a D(-)-tejsavat pedig nem.

Hasonló termékek kifejlesztésével – különösen a galaktozémias betegek részére - mind hazai, mind nemzetközi téren csak igen kis mértékben foglalkoztak.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. A tehéntej összetétele, jellemzése táplálkozásélettani szempontból

Az MTA Élelmiszertudományi Komplex Bizottsága a Magyar Táplálkozástudományi Társaság közreműködésével megállapította azokat az alapvető irányelveket, amelyek hozzásegítik a lakosságot a kiegyensúlyozott táplálkozás megvalósításához. Az irányelvek 5. pontja javasolja, hogy naponta fogyassunk mintegy fél liter tejet ill. tejterméket (MTA ÉKB, OÉTI MTT állásfoglalás 1987).

Nem véletlenül született ez az ajánlás, hiszen a tej az ember életének legelső szakaszától kezdve fontos táplálék. Jelentőségét tápanyagokban való gazdagságának köszönheti, amelyeket megfelelő összetételben és könnyen emészthető formában tartalmaz (RIGÓ, 1999).

2.1.1. A tej fehérjetartalma és aminosavösszetétele

A tej átlagos fehérjetartalma 3,3%. A tejfehérje különböző frakciókból áll, amelyek közül a kazein a tejfehérje 80, míg a savófehérjék 20%-át teszik ki.

A kazein négy frakcióra bontható: α -, β -, γ -, és κ -kazeinre. Ezek további frakciókra ill. variánsokra bonthatók. Az egyes kazeinfrakciók jelentős mértékben különböznek egymástól a foszfortartalomban (CSAPÓ & CSAPÓNÉ, 2002). A kazein frakciónak csak mintegy 10%-a található monomerként a tejben. A kazein nagy része kazeinkomplexet alkot és kazeinmicellává aggregálódik (BELITZ & GROSCH 1999).

A savófehérje frakciók közé soroljuk a szérumalbumint, a β -laktoglobulint, az α -laktoglobulint, és az immunglobulinokat.

A kis mennyiségben előforduló fehérjekomponensek közül jelentős a laktoferrin, a tej egyik vaskötő fehérjéje, amely két vasatom megkötésére képes glikoprotein.

Néhány fehérjeváltozatot genetikai variánsnak tekintenek, mert a különböző szarvasmarha populációkban különböző mennyiségben fordulnak elő és vannak olyan genetikai variánsok is, amelyek egyes populációkban egyáltalán nem fordulnak elő (CSAPÓ & CSAPÓNÉ, 2002). A tej legfontosabb fehérjéit a melléklet 1.sz. táblázatában tüntettem fel.

A tej fehérjéi gazdagok esszenciális aminosavakban. Bár az egyes fehérjefrakciók esszenciális aminosav tartalma között eltérés tapasztalható – 100 g savófehérje átlagosan 50,9 g, míg a kazein 45,1 g esszenciális aminosavat tartalmaz –, fél liter tej elfogyasztásával a metionin és a cisztein kivételével az összes esszenciális aminosav szükségletet ki lehet elégíteni. A melléklet 2.

sz. táblázata a tej aminosav összetételét mutatja a tejfehérje, a kazein, valamint a savófehérje vonatkozásában.

2.1.2. A tej szénhidráttartalma

A tej legfontosabb szénhidrátja a laktóz (β -D-galaktopiranozil-(1 \rightarrow 4)-D-glükóz). A laktóz mellett kis mennyiségben kimutatható rendszerint glükóz és galaktóz, továbbá – legfeljebb 0,1% mennyiségben – különböző 2-10 monoszacharidot tartalmazó oligoszacharid, amelynek felépítésében glükózon és galaktózon kívül L-fukóz, N-acetil-D-glukózamin és N-acetil-D-galaktózamin, továbbá sziálsav vesz részt (GASZTONYI & LÁSZTITY, 1993).

2.1.2.1. Laktóz

Kémiai tulajdonságok

A laktóz redukáló diszacharid, amely hidrolizálva egy molekula glükózra és egy molekula galaktózra bomlik. A szacharóznál kevésbé édes ízű, enyhén hashajtó hatású. A laktóz az emlősök tejében fordul elő. A tehéntej átlagosan 5% laktózt tartalmaz, amely két különböző, α és β módosulatban fordul elő. Az α -laktózban α -D-glükóz, a β -módosulatban β -D-glükóz kapcsolódik a β -D-galaktóz molekulához. A két módosulat kémiai tulajdonságai megegyeznek, fizikai tulajdonságaik (oldhatóság, forgatóképesség, olvadáspont) eltérőek. Ezek közül legfontosabb, hogy oldhatóságukban különböznek. A β -laktóz vízben való oldhatósága jóval nagyobb az α -laktózenál. A hőmérséklet növekedésével az oldhatóság fokozódik. Oldataik fajlagos forgatóképessége szintén különböző, a mutarotáció után beálló egyensúlyi állapotban 52,5°. A mutarotáció sebessége függ a hőmérséklettől és a pH-tól. Ezzel befolyásolni lehet, hogy a laktóz az oldatból milyen kristályok alakjában váljon ki.

A tejcukor lúgokkal szemben nagyon érzékeny, már híg lúgos oldatban is bomlik. A bomlás során barna színű huminanyagok is keletkeznek.

Savakkal szemben a tejcukor nagyon ellenálló, nehezebben hidrolizálható, mint a répacukor. A β -galaktozidáz (laktáz) enzim D-galaktózra és D-glükózra hidrolizálja (GASZTONYI & LÁSZTITY, 1993, BELITZ & GROSCH, 1999).

A laktóz szerepe az ásványi anyagok abszorpciójában

Bár a tej az élelmiszerek között nem tekinthető kiemelkedő szénhidrát forrásnak, tejcukor tartalma jelentős szerepet játszik az anyagcsere folyamatokban. A kalcium abszorpciója például jelentősen, mintegy 7%-al megnő, ha a táplálék tejcukrot is tartalmaz (SZAKÁLY, 1999).

A megnövekedett kalciumabszorpció egyik magyarázata az, hogy a tejsav által létrehozott savas körülmények között a kalciumsók oldhatósága jobb, aminek hatására megnő a hasznosítható kalcium mennyisége (CSAPÓ & CSAPÓNÉ, 2002).

Hatással lehet a megnövekedett abszorpcóra az is, hogy a laktóz oldható komplexet képez a kalciummal, ráadásul a laktóz még a kalcium transzportját is megkönnyíti. Állatkísérletekkel kimutatták, hogy tejcukor jelenlétében egyes ásványi anyagok - kalcium, magnézium, vas, réz, cink. - abszorpciója a vékonybélben jelentősen javult. Az állatcsoport egyik részének takarmánya laktózt is tartalmazott. Ennél a csoportnál csökkentek a kalciumhiány tünetei, csökkent a csontváz kalciumvesztése és nőtt a vér kalcium koncentrációja. A kalcium beépülése a csontokba sokkal gyorsabb volt, amivel nagyobb csonttömeget és jobb minőségű csontállományt értek el (WEIß, 1967).

A laktóz hatása a bélflórára

Csecsemőknél és felnőtteknél egyaránt szükség van laktózra a kívánatos bélflóra kialakításához, illetve fenntartásához (ELMADFA & LEITZMANN, 1998).

A magzat tápcsatornája steril. Születéskor az anyai szülőút és bélflóra, valamint a kórházi tényezők hatására megkezdődik a baktériumok betelepítése (MICSKEY, 2000). Ezután számos tényező alakítja az újszülött bélflóráját, melynek egyik, igen fontos tényezője a táplálkozás. A laktóz a vékonybélben, az epitél sejtek membránjában képződő laktáz enzim hatására galaktózra és glükózra bomlik és ezek a monoszacharidok a bélflóra tápanyagául is szolgálnak.

A tápszerrel táplált csecsemők bélflórájának összetétele lényegesen eltér az anyatejes csecsemők bélflórájától (HARMNSEN et al. 2000). Az anyatejjel táplált újszülöttek bélflórájában a *Bifidobacterium* és a *Lactobacillus* nemzetség válik uralkodóvá, amelyeknek jótékony hatása van a bélműködésre, valamint az immunrendszer fejlődésére (HANSON et al., 1995, GRÖNLUND et al., 2000). A *Bifidobacterium* a tejsav és ecetsav termeléssel maga is hozzájárul a savas pH-hoz, ami megakadályozza a fehérjebontó és rothasztó, valamint a patogén baktériumok szaporodását, acidofil flórával helyettesítve azokat.

A laktóz egyéb hatásai a szervezetre

A tejcukor élettani hatásának értékelésekor a hazai vizsgálatok bebizonyították, hogy a fehérjét beépítő hatás laktóz tartalmú keverékek esetén lényegesen nagyobb, mint más cukrok fogyasztásakor. Míg a dextrin-maltóz keverék 27%-os fehérjebeépülést eredményezett, addig a dextrin-maltóz-laktóz keverék esetében 72%-os beépülést tapasztaltak (RIGÓ, 1999).

A tejcukornak enyhe hashajtó hatása is van (KNICK, 1991). A tejcukor egyik összetevője, a galaktóz, a fehérjével, vagy zsírral kapcsolódva épül be a porcba, a kötőszövetbe és szerepe van az idegrendszer felépítésében is (RIGÓ, 1999).

2.1.2.2. Laktulóz

A laktulóz a laktóz izomerizációs terméke. Sem a hőkezeletlen tejben, sem az anyatejben nem fordul elő. Hőkezelés és hosszabb idejű tárolás hatására a laktózból alakul át (AMINE et al. 2000). A laktulózban a glükóz helyett fruktóz kapcsolódik a galaktózhoz. Édesebb ízű, mint a laktóz. A Nemzetközi Tejszövetség (IDF), valamint az Európai Unió a laktulózt javasolta, mint alkalmas paramétert a hőkezelt tejek minőségének jelzésére, a hőkezelés mértékének megállapítására (EU Commission, 1992; IDF, 1992 and IDF, 1993). A különböző hőkezelési technológiák hatására különböző mértékben keletkezik laktulóz, ezért használható ezek jelzésére (MARCONI et al. 2004).

A laktulóz különösen jó energiaforrás és növekedési faktor az ún. probiotikus baktériumok, pl. a *Bifidobacterium bifidum* és a *Lactobacillus acidophilus* számára.

A sterilizett, laktóztartalmú bébitápszerekben 29-108 mg/l, a savóval gazdagított bébitápszerekben 97-312 mg/l között mozog a laktulóz tartalom. Ez a mennyiség kedvező a bélflóra kialakítása szempontjából, de nem haladja meg az Európai Unió által a hőkezelt tejekben javasolt 600 mg/l-es határt (GONZÁLES et al., 2003).

2.1.3. A tej lipid tartalma

A tehéntej átlagos zsírtartalma 3,8%, de ez az érték tág határok, 2,5-8% között változhat. A tejszírsban több mint kétszáz különböző zsírsav található, ezek közül azonban a legtöbb csak nyomokban fordul elő a tejben. A tejszír viszonylag sok rövid és közepes szénláncú zsírsavat tartalmaz, amelyek könnyebben abszorbeálódnak, mint a hosszú szénláncúak, ezért a tejszír emészthetősége kiváló. A tejszír jellemző zsírsavösszetételét a melléklet 3.sz. táblázata tartalmazza.

A tejszír az újabb vizsgálatok szerint olyan komponensek forrása is, amelyek rákellenes és érlemeszesedést megelőző hatását több állatkísérlet során is észlelték. E komponensek közül kiemelkedően fontos szerepe van a *konjugált linolsavaknak* (KLS) (WAHLE et al., 2004, ALBRIGHT et al., 2005, O'SHEA et al., 1998).

Az immunrendszerre gyakorolt jótékony hatásukat viszont a vizsgálatok eddig nem igazolták (NUGENT et al., 2005)

A konjugált linolsav elnevezés olyan szerkezeti és geometriai linolsav izomerek gyűjtőneve, amelyekben a két kettős kötés konjugált helyzetű. A nyers tej KLS tartalmának nagy része a tehének bendőjében zajló biokémiai reakciókból származik, de keletkezik a tejfeldolgozás során az egyes technológiai lépések hatására is. Bár a konjugált linolsavak a húsban, a tojásban, és kisebb mértékben a növényi olajokban is megtalálhatóak, a legfontosabb konjugált linolsav forrásnak a tej és a tejtermékek tekinthetők (CSAPÓ & CSAPÓNÉ, 2002).

2.1.4. A tej vitaminjai és ásványi anyagai

A tejben a legtöbb ismert vitamin megtalálható, melyek átlagos mennyiségét a melléklet 4. sz. táblázatban tüntettem fel. A szélső értékek jelzik, hogy koncentrációjukat a tejben számos tényező befolyásolja.

- Így például a tej feldolgozása során alkalmazott hőkezelés módosíthatja mennyiségüket, de a vitaminok vesztesége a C-vitamin kivételével mind a pasztörözés, mind az ultra magas hőmérsékleten való hőkezelés (UHT) esetén viszonylag alacsony.
- A zsírban oldódó vitaminok koncentrációja összefügg a tej zsírtartalmával. A nagyobb zsírtartalmú tejek több zsírban oldódó vitamint tartalmaznak. Az A vitamin példáján bemutatva, 0,04mg/l, 0,23mg/l és 0,33mg/l vitamin tartalmakat mértek fölözött, 0,5% zsírtartalmú, 2% zsírtartalmú, valamint 3,25% zsírtartalmú tejből.
- Egyes vitaminok mennyiségének alakulását befolyásolja a takarmányozás, másokét nem. Míg a takarmány és a tej A-vitamin és karotin tartalma között szoros összefüggés van, addig a C-, valamint a legtöbb B-vitamin mennyiségét nem befolyásolja a takarmány összetétele. A B-vitamin csoporton belül kivételt képez a B₁₂-vitamin, ennek mennyisége a takarmányhoz adagolt kobalt tartalmú kiegészítővel növelhető.
- Az évszak, illetve a napsütéses órák száma módosíthatja a D-vitamin tartalmat. A D₃-vitamint a szervezet ultraibolya fény hatására a 7-dehidrokoleszterinből kellő mennyiségben szintetizálja. A D-vitamin koncentrációja ezért a nyári legelőn tartott tehének tejében

megnő, különösen hegyes vidéken, ahol a napfény UV sugarainak energiája nagyobb. Ugyancsak nagyobb a tej karotin, A- és E-vitamin tartalma nyáron, legeltetéskor, mint télen. Csak kis különbségek észlelhetők viszont a C- és B-vitaminok koncentrációjában, az évszakok függvényében.

A javasolt napi vitaminfelvételt összevetve 1 l tej vitamintartalmával, megállapíthatjuk, hogy a tej jelentős vitaminforrás. A melléklet 5. sz. táblázata a felnőtt ember javasolt napi vitaminfelvételét tartalmazza, valamint azt, hogy 1 l tej hány százalékát fedezi ennek a vitaminszükségletnek.

A tehéntej literenként átlagosan 7g ásványi anyagot tartalmaz. A makroelemek közül a magnéziumnak kb. egyharmada, a kalcium és a foszfor 20%-a kalcium-kazeinát komplex formában a kazeinhez kötődik. A szervezet a kalciumot ebben a fehérjéhez kötött formában tudja a legkönnyebben hasznosítani, s ezért tekinthető a tej kitűnő kalcium forrásnak. A kalcium abszorpcióját a fehérjén kívül a laktóz, a D-vitamin és a citromsav is elősegíti. Az ember kalcium szükséglete tej és tejtermékek fogyasztása nélkül nehezen biztosítható. Fél liter tej a felnőttek kalciumszükségletének háromnegyedét, a serdülőkének és idősekének közel kétharmadát fedezi. A javasolt napi 800 mg kalciumfelvételt 660 ml tej, vagy 114 g keménysajt elfogyasztása biztosítja. A tej makroelem tartalmát az évszak és a takarmányozás csak minimális mértékben befolyásolja.

A tejben a mikroelemek nagy része szerves kötésben fordul elő. A réz, a cink, a mangán és a vas egy része a tejszír golyócskák membránjában található. A vas nagyobb része, 60-70%-a a cink 80%-a, de a réz és a jód nagy része is a kazeinhez kötődik. A szelén nagyrészt, a cink és a jód kisebb részben szabad ion formában van jelen a tejben. Mindezt azért érdemes tudni, mert a tej feldolgozása során a fehérje illetve a zsírtartalom módosulásával változhat a mikroelemek mennyisége is.

A tejben lévő mikroelemek koncentrációja nagy ingadozásokat mutat, amely elsősorban a takarmányozással, a legelők földrajzi elhelyezkedésével illetve az évszakok változásával hozható összefüggésbe. A tej makro- és mikroelem tartalmát a melléklet 6. sz táblázata tartalmazza.

2.2. Savanyított tejkészítmények jellemzése

A savanyú tejkészítmények közös jellemzője, hogy a megfelelően előkészített és hőkezelt, a MAGYAR ÉLELMISZERKÖNYV (2004) MÉ 2-51 sz. irányelv 03 sz. fejezetében meghatározott anyagokból speciális mikrobatenyészetek hozzáadásával savanyítás és alvasztás útján készülnek.

Az emberiség legősibb savanyú tejei, így a joghurt, a joghurt típusú savanyú tejek, valamint a kefir és a kumis egytől egyig mind a Közel-Keletről, a Balkánról, a Kaukázusból, Nyugat és

Közép-Ázsiából, és a Mongol síkságról származnak, ill. e vidékeken terjedtek el először. Az e területeken uralkodó klimatikus viszonyok között a magasabb hőmérsékleten (42-45°C-on) szaporodó tejsavbaktériumok (termofilek) és emellett még az alkoholos erjesztést végző élesztők szelektálódtak, honosodtak meg a legelők füvein és kerültek onnan a tejbe. Így adódott, hogy a joghurt típusú savanyú tejek savanyító kultúrái kivétel nélkül magas hőmérsékleten savanyítanak, sok savat termelnek, így akár 4 alá is vihetik a pH-t, ami a romlást nagymértékben akadályozza.

A kefir és a kumisz esetében a savtermelés mellett az élesztők által képzett alkohol is fontos, mint természetes tartósító anyag.

Az említett három ősi savanyú tejkészítményen túl az emberiség által ma előállított és fogyasztott aludttej típusú termékek Európa nyugati és északi területein i.sz. után, a közeli évezredben honosodtak meg. Miután e területeken az uralkodó hőmérséklet közepes, az aludttejet alvasztó tejsavbaktériumok is közepes hőmérsékleten (18-30°C) szaporodnak. A mezofil tejsavbaktériumok lassan savanyítanak és kevesebb savat termelnek, mint a termofilek (SZAKÁLY, 2001).

A XX. században – a mikrobiológia és a tejfeldolgozás rohamos fejlődésével – azonosították és elkülönítették a joghurt, a kefir és a kumisz jellemző természetes mikrobáit és ma már ezek szintenyészeteivel készül nem nyers, hanem pasztörözött alapanyagból a savanyított tejkészítmények sokasága.

2.2.1. A savanyított tejkészítmények főbb típusai

A savanyú tejkészítmények elsődleges választékát az adja, hogy milyen hőmérsékleten szaporodó és milyen erjesztést végző kultúrákkal állítják elő azokat. A savanyított tejkészítmények főbb típusait az 1. sz. táblázat tartalmazza (SZAKÁLY, 1999).

2.2.2. A savanyított tejkészítmények előállításához használt kultúrák jellemzése és a technológia rövid ismertetése

A savanyú tej- és tejszínkészítmények alapanyagának megalvasztását, a termékek jellegzetes aromájának és ízének a kialakítását a különböző tejsavbaktérium- és egyéb élesztőtörzseket tartalmazó kultúrák felhasználásával végzik. A különböző termékek szintenyészetét és azok néhány tulajdonságát a 2. sz. táblázat ismerteti.

A joghurt és kefir gyártástechnológiájának folyamatát a legfontosabb jellemzőkkel a melléklet 1. sz. ábrája tartalmazza.

1. sz. táblázat A savanyított tejkészítmények csoportosítása

Savanyított tejkészítmények (zsírtartalom: 0,1-10%)				
Termofil tejsavbaktériumokkal savanyított		Mezofil tejsavbaktériumokkal savanyított	Tejsavbaktériumokkal és élesztőkkel erjesztett	
Hagyományos joghurt	Probiotikus joghurt	Aludttej	Kefir	Kumis

(Forrás: SZAKÁLY, 2001)

2. sz. táblázat A különböző savanyú tej- és tejszínkészítmények gyártásához alkalmazott kultúrák és jellemzőik

A termék		A kultúra					
Savanyítási, erjedési típusa	Megnevezése	Megnevezése	Inokulum a tömeg savanyítóhoz %	A tenyésztési		Savfok SH°	Inokulum a termékhez
				Hőmérséklet °C	Idő Óra		
Termofil tejsavbaktériumokkal savanyított	Joghurt	Joghurt-kultúra	2-3	37-45	2-4	38-42	2-5
Mezofil tejsavbaktériumokkal savanyított	Aludttej Tejföl Író	vajkultúra	0,5-1	20-25	12-20	36-38	0,5-5
Tejsavbaktériumokkal és élesztőkkel erjesztett	Kefir	kefirkultúra	2-5	18-22	14-25	38-40	2-5

(Forrás: BALATONI & KETTING, 1981)

2.2.2.1. Termofil tejsavbaktériumokkal készített termékek

A joghurtkultúra *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* és *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* meghatározott arányú szimbiotikus tenyésztete (MÉ 2-51/03, 2004). A jó minőségű joghurtkultúrában a kokkusz-pálca arány 1:1, esetleg 2:1. Baktériumai közül a *S. thermophilus* gyorsabban kezd szaporodni, mint a *L. bulgaricus*. Az inkubáció kezdetén a kokkuszok termelik a savat. A tenyésztés második szakaszában szaporodnak el a pálcák, és az inkubáció végére ismét helyreáll a kívánatos kokkusz-pálca arány.

A joghurtkultúra 42-46 °C-on való tenyésztése során rendkívül fontos, hogy a kívánatos 34-36 SH° (4,5-4,6 pH) elérése után a tenyésztetet minél gyorsabban +5 °C körüli hőmérsékletre hűtsük. A hűtés nemcsak a savanyodás meggátlását szolgálja, hanem ezen az alacsony hőmérsékleten alakulnak ki a joghurt jellegzetes aromaanyagai is (BALATONI & KETTING, 1981).

2.2.2.2. Vegyes (tejsavas és alkoholos) fermentációval készült termékek

Vegyes erjesztéssel készül a kefir és a kumisz.

Kefir

A kefir olyan fermentált tejkészítmény, amelyet különböző mikroorganizmusok széles skáláját tartalmazó tenyésztettel állítanak elő. A Lactococcusok és élesztők mellett legnagyobb mennyiségben, mintegy 65-80%-ban a Lactobacillusok vannak jelen a populációban (WOUTERS et al., 2002). Különbséget kell tenni a tejiparban használatos ipari kultúrák és a tradicionális, vagy eredeti kultúrák összetétele között, hiszen mind a fajok számában, mind élőcsíraszámában eltérés tapasztalható. Az ipari kefir kultúrákban az élesztők élőcsíraszámára számottevően kisebb, az Acetobacter fajok pedig hiányozhatnak is.

Ipari kefir kultúrák

A kefirt a MAGYAR ÉLELMISZERKÖNYV (2004) MÉ 2-51/03 meghatározása szerint kefirgombából készített mikrobatenyésztet használatával állítják elő, amely tartalmaz: *Lactobacillus kefir*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* és néha *Acetobacter*-fajokat is jellemző arányban, valamint laktózerjesztő élesztőket (*Kluyveromyces marxianus*) és laktózt nem erjesztő élesztőket (*Saccharomyces omnisporus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces exiguus*). Ugyancsak a

Magyar Élelmiszerkönyv előírása szerint a kultúrából származó tejsavbaktériumok száma legalább 10^7 élőcsíra/g, a kultúrából származó élesztők száma legalább 10^4 élőcsíra/g kell, hogy legyen. Mindez összhangban van a Codex Alimentarius előírásaival (CODEX STAN, 2003).

A kefir kultúrával való alvasztás folyamán lényegében két erjedés, a tejsavas és az alkoholos megy végbe. Az első a tejsavbaktériumok, a második az élesztők munkájának eredménye. Mindezek mellett kisebb mértékű fehérjebontás és az alkoholos erjedéssel együtt jelentős mértékű CO_2 képzés is végbemegy. A kefir minősége a képződött tejsav és alkohol arányától, valamint a CO_2 mennyiségétől függ. A két erjedésnek egymással összhangban kell lennie. Ez elsősorban a tenyésztési hőmérséklettől függ. A hőmérséklettel irányítható a mikrobakomponensek mennyisége és aránya, ennek következtében anyagcsere termékeik (pl. tejsav, alkohol, szén-dioxid, aromaanyagok) képzése is (SZAKÁLY, 2001). Az optimálisnál nagyobb hőmérsékleten (23°C felett) gyorsabb az alvadás, erősebb a tejsavképzés, az alkohol- és a CO_2 képzés is intenzívebb a kívánatosnál. A $18\text{-}22^\circ\text{C}$ közötti hőmérsékleten biztosított leginkább a tejsavas és alkoholos erjedés megfelelő összhangja és egyúttal legkifejezettebb a kefir íze is.

Kefir készítéséhez a Christian Hansen cég által forgalmazott kefir kultúrák felhasználási utasítása magasabb fermentációs hőfokot ($32\text{-}35^\circ\text{C}$) és rövidebb időt (10-15 óra) ír elő, mint amit a magyar technológiai gyakorlatban alkalmaznak (www.chr-hansen.com, 2002).

A jó minőségű kefir-kultúra savfoka az alvadás után $30\text{-}32\text{ SH}^\circ$ ($4,7\text{ pH}$), 8°C -on történő 24 órás tárolás után $38\text{-}40\text{ SH}^\circ$ ($4,5\text{ pH}$), ezért kellemesen savanyúak (BALATONI & KETTING, 1981). A tejsav mellett $0,6\text{-}2\%$ alkohol is képződik, ami a széndioxiddal és az aromaanyagokkal együtt tovább növeli a kellemes ízérzetet. Nem véletlen tehát, hogy a kefir un. natúr (nem ízesített) változatban vált népszerűvé és nem jártak kellő piaci sikerrel az ízesített kefirrel való próbálkozások, miután a kis savmennyiség semlegesebb, kevésbé kifejezett ízhatást kölcsönöz azoknak (SZAKÁLY, 1999).

Tradicionális kefir-kultúra, a kefirgomba

A tradicionális kefir-kultúra a köztudatban kefirgombaként szerepel, amely egy fehéres, sárgás, karfiolhoz hasonlatos szemcsékből álló, rugalmas, gélszerű massa. A szemcsék mérete a borsótól a dió nagyságig terjed. A mátrix $30\text{-}34\%$ -át denaturált kazein, $45\text{-}60\%$ -át poliszacharidok, $3\text{-}4\%$ -át zsiradék, valamint mikroorganizmusok alkotják. A poliszacharid mátrixot egy egyenlő arányban glükózból és galaktózból álló elágazó láncú glükogalaktán vegyület alkotja, melyet kefirannak neveznek (GARROTE et al., 1997). Ezt az exopoliszacharidot a kefirgombából izolált *Lactobacillus kefiranofaciens* termeli (KOOIMAN, 1968). A kefiran antibakteriális, antimikotikus

és antitumor aktivitással rendelkezik (MICHELLI et al. 1999; RODRIGUES et al. 2005; SHIOMI et al. 1982)

A kefirgombát alkotó mikrobák vizsgálatával számos kutató foglalkozik. A kefirgombában élesztőgombák, tejsavbaktériumok, ecetsavbaktériumok, és fonalas gombák élnek szimbiózisban (WITTHUHN et al., 2005). Vannak fajok, amelyek mindig előfordulnak a kefirgombában, s vannak, amelyek a kefirgomba eredetétől és tenyésztési körülményeitől függően csak alkalmanként mutathatók ki (PINTANDO et al. 1996).

SEILER (2003) szerint a tradicionális kefir kultúra jellemző populáció struktúrája a következő:

- Homofermentatív mezofil lactococcusok (*Lactococcus lactis* subs. *lactis*, *Lactococcus lactis* subs. *cremoris*): $\sim 10^8$ - 10^9 cfu/ml;
- mezofil lactobacillusok: $\sim 10^2$ - 10^3 cfu/ml;
- termofil lactobacillusok: $\sim 10^5$ cfu/ml.
- heterofermentatív mezofil streptococcusok (*Leuconostoc spp.*): $\sim 10^7$ - 10^8 cfu/ml;
- élesztők: 10^5 - 10^6 cfu/ml;
- *Acetobacter* félék: $\sim 10^5$ - 10^6 cfu/ml.

Mások a következő tejsavbaktérium fajokat izolálták a kefirgombából: *Lactobacillus acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. kefir*, *L. parakefir*, *Lactococcus lactis*, és *Leuconostoc mesenteroides* (ASSADI et al. 2000; COGAN et al. 1997; FUJISAWA et al. 1988; KANDLER & KUNATH, 1983; MICHELLI et al. 1999; PINTANDO et al. 1996; TAKIZAWA et al. 1998; WITTHUHN et al. 2004).

Az élesztőgombák közül izolálták a *Kluyveromyces marxianus*, a *Torula kefir*, a *Saccharomyces exiguus* és a *Candida lambica* fajokat (ASSADI et al. 2000; GARROTE et al. 1997; KWAK et al. 1996; PINTANDO et al. 1996; WITTHUHN et al. 2004; WYDER et al. 1999; WYDER & PUHAN, 1997).

Továbbá azonosították az *Acetobacter aceti* és *A. rasens*, a fonalas gombák közül pedig a *Geotrichum candidum* fajokat (PINTANDO et al. 1996).

Élesztőgombák a kefirben

ADACHI et al. (1990) a kefirgombában található élesztőfajokat laktózt fermentáló és laktózt nem fermentáló fajokra osztotta. Így tehát jellemző a *Kluyveromyces marxianus*, a *K. lactis* előfordulása, a *Saccharomyces* fajok közül pedig a *S. unisporus*, a *S. servazzii*, a *S. dairensis*, *S. exiguus* és a *S. turicensis* a leggyakoribb (SEILER, 2003). A laktózt fermentáló élesztők és a tejsavbaktériumok β -galaktozidáz enzime glükózra és galaktózra bontja a tejcukrot. Miközben a

homo- és heterofermentatív tejsavbaktériumok a glükózt tejsav, etanol, CO₂ illetve aromaanyagok képzése közben lebontják, addig a galaktóz feloldódik a közegben, s a galaktóz bontására képes élesztőgombák metabolizálják azt (SEILER, 2003).

A *Saccharomyces* fajokra jellemző, hogy képesek a galaktózt fermentálni (MONTANARI et al. 1996). Legszélesebb körben a *Saccharomyces cerevisiae* törzseit tanulmányozták a galaktózbontó képesség szempontjából. NEVIANI et al. (2001) a *S. cerevisiae* PZ2 törzs metabolizmusát vizsgálta galaktózt nem bontó (Gal⁻) tejsavbaktériumokkal vegyes tenyészetben. Bár az előzetes hipotézis az volt, hogy a *S. cerevisiae* képes a Gal⁻ tejsavbaktériumok által termelt galaktóz fermentálására, a kísérlet ötödik napján is kimutatható volt galaktóz a szubsztrátumban.

CHEIRSLIP et al. (2003) a *Lactobacillus kefiranofaciens* kefiran termelő képességét vizsgálták tiszta, és öt élesztőtörzsszel vegyes tenyészetben. A fermentáció közben mérték a mikroorganizmusok tejcukor és galaktózbontó képességet is. Megállapították, hogy a *S. unisporus* IFO0724, a *Candida tenuis* IFO1303 és a *C. kefir* IFO10278 képes volt asszimilálni a laktózt is, a *Torulaspota delbruekii* IFO1626 és a *S. cerevisiae* IFO0216 pedig nem. A kísérleteket a *S. cerevisiae* IFO0216 törzs és a *Lactobacillus kefiranofaciens* vegyes tenyészetével folytatták tovább. Megállapították, hogy a galaktóz bontásának megindulása után 40 órával a galaktóz csak nyomokban mutatható ki a szubsztrátumból (CHEIRSLIP et al., 2003).

KEATING et al. (2004) *Saccharomyces cerevisiae* törzsek galaktóz metabolizmusát vizsgálták. Az egy ipari *S. cerevisiae* (T1) és öt vad törzs (Y-1347, Y-1528, Y-965, Y-562, Y-567) vizsgálata során kiderült, hogy az Y-1528 törzs mind tiszta galaktózzoldatban, mind galaktóz, glükóz, és mannóz keverékének oldatában a galaktóz a fermentáció 6. órájában csak nyomokban volt kimutatható.

Kumis

A kumis az ázsiai országokban, kancatejből előállított fermentált tejkészítmény. A fermentációt végző vegyes tenyészetből mezofil tejsavbaktériumokat, élesztőgombákat, és a joghurt kultúra tagjait identifikálták. A kancatej több laktózt tartalmaz, mint a tehéntej, ezért a kumis nagyobb alkoholtartalma, mint a kefir. Alkoholtartalomtól függően megkülönböztetnek friss, (0,7-1% alkohol) normál (1-1,75% alkohol) és érett (1,75-2,5 % alkohol) kumiszt. A kefirhez képest különbség mutatkozik a fehérje bomlástermékek mennyiségében. Bár a kancatej fehérjetartalma kisebb, mint a tehéntejé, a fehérjebontás aránya tízszer nagyobb, mint a kefir esetében. Így a kumis igen gazdag peptonokban. Míg a kefirben 0,05-0,12% a mennyiségük, addig a kumisban 0,2-1,0%-ot is kitesz.

A kumiszt jellemző élesztőflórája részben laktóz erjesztő, részben galaktózerjesztő élesztőkből áll. Ezek mellett izoláltak hártvaképző fajokat és penészgombákat is. A kumiszt jellemző élesztő és penészgomba flóráját a 3.sz. táblázatban tüntettem fel.

3. sz. táblázat A kumiszt jellemző élesztő- és penészgomba flórája

Mikroszkópikus gombák a kumisztban			
Laktózerjesztő élesztő fajok	Galaktózerjesztő élesztő fajok	Hártvaképző fajok	Penészgomba fajok
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Issatchenkia orientalis</i> ,	<i>Trichosporon beigeli</i>
<i>Kluyveromyces lactis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Issatchenkia occidentalis</i>	<i>Galactomyces geotrichum</i>
	<i>Saccharomyces uniformis</i>	<i>Pichia membranaefaciens</i> ,	
		<i>Pichia fermentans</i>	

(Forrás: SEILER, 2003)

A volt Szovjetunió területén a kumiszt specális, *Mycobacterium tuberculosis* elleni antibiotikus hatást tulajdonítottak, ezért az orosz kórházakban a tüdőbaj korai szakaszában a kumiszt része volt az integrált gyógyításnak. A kumiszt az anaerob spórás baktériumok növekedését is gátolja, ezért májgyulladásos gyerekek kezelésére is alkalmazták (CSAPÓ & CSAPÓNÉ, 2002).

2.2.2.3. Mezofil tejsavbaktériumokkal készített termékek

Hazánkban sem az ízesített, sem a natúr változat nem terjedt el, habár a paraszti köcsögös aludttejt történelmi múltja ezeréves. Az aludttejtet alvasztó mezofil tejsavbaktériumok 18-30 °C között szaporodnak optimálisan. A mezofil tejsavbaktériumok lassan savanyítanak és kevesebb savat termelnek, mint a termofilek (SZAKÁLY, 1999).

2.2.2.4. Probiotikus baktériumokkal készített termékek

Az elmúlt évtizedben az egész világon az egyik kiemelt kutatási trend volt az emberi szervezetben élő jótékony mikroorganizmusok, a bélflórában is megtalálható probiotikumok szerepének, hatásának vizsgálata.

A probiotikumok köre és alapvető jellemzőik

Probiotikumoknak nevezik mindazokat a humánbarát bélbaktériumokat, amelyek többféle jótékony hatást gyakorolnak a gazdaszervezet egészségi állapotára.

A legtöbb probiotikum tejsavtermelő baktérium. A leggyakrabban használt fajok nagyobb részben a *Lactobacillus*, és a *Bifidobacterium*, kisebb részben a *Streptococcus* nemzetséghez tartoznak. Az újabb probiotikumok között élesztőt (*Saccharomyces boulardii*) is számon tartanak (MOLNÁR, 2005). Az élelmiszeripari technológiában és a gyógyászatban leggyakrabban használt fajok listáját a 4.sz. táblázat tartalmazza.

4. sz. táblázat A nemzetközi gyakorlatban leggyakrabban használt probiotikus mikroorganizmus fajok

Baktériumok			Élesztőgomba
<i>Lactobacillus</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>L.acidophilus</i>	<i>B.bifidum</i>	<i>S.thermophilus</i>	<i>S.boulardii</i>
<i>L.casei</i>	<i>B.breve</i>		
<i>L.fermentum</i>	<i>B.lactis</i>		
<i>L.gasseri</i>	<i>B.longum</i>		
<i>L.johnsonii</i>			
<i>L.lactis</i>			
<i>L.paracasei</i>			
<i>L.plantarum</i>			
<i>L.reuteri</i>			
<i>L.rhamnosus</i>			
<i>L.salivarius</i>			

(Forrás: KOPP-HOOLIHAN, 2001)

Az ismert külföldi törzsek mellett magyar kutatók által izolált probiotikus törzseket is alkalmaznak mind az élelmiszer, mind a gyógyszeriparban. A Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet (MTKI) munkatársai által izolált és a gyűjteményükben tárolt törzseket az 5. sz. táblázatban tüntettem fel

5. sz. táblázat A Magyar Tejkísérleti Intézet igazolt probiotikus törzsei

Nemzetség	Törzs
Streptococcus (Sc.)	<i>Sc. thermophilus</i> (Probiolact-1)
	<i>Sc. thermophilus</i> (Probiolact-2)
<i>Lactobacillus</i> (Lb.)	<i>Lb. acidophilus</i> (Probiolact-3)
	<i>Lb. casei Tomka</i> (Probiolact-4)
<i>Bifidobacterium</i> (B.)	<i>B. bifidum</i> (Probiolact-5)

(Forrás: SZAKÁLY, 2004)

A *Bifidobacterium* fajok Gram pozitív, nem spóráképző, nem mozgékony, kataláz negatív, változatos alakú (gömbült, golfütő, vagy Y alakú pálcá) anaerob baktériumok. Jelenleg mintegy 30 fajt számlál a nemzetség, amelyek közül 10 humán eredetű. Cukorhasznosító mikroorganizmusok, amelyek ecetsavat és tejsavat termelnek CO₂ fejlődése nélkül. A glükóz mellett az összes humán eredetű faj képes szénforrásként hasznosítani a galaktózt, a tejcukrot és a fruktózt is (GOMES & MALCATA, 1999).

A *Lactobacillus* fajok gram pozitív, nem spóráképző, nem ostoros, nem mozgékony pálcák, vagy gömbök. Levegőtűrőek, vagy anaerobok és szigorúan fermentatívak. A glükózt elsősorban homofermentatív úton tejsavvá erjesztik, vagy heterofermentatív úton ekvivalens mennyiségben CO₂, tejsav, etilalkohol, és ecetsav, vagy csak ecetsav az etilalkohol helyett. Jelenleg 56 faj tartozik a nemzetségbe (GOMES & MALCATA, 1999). A napjainkban ismert *Bifidobacterium* és *Lactobacillus* fajokat a melléklet 7. sz. táblázata tartalmazza.

A mai probiotikus törzsek és a velük szemben támasztott követelmények

Mai ismereteink szerint minden tejsavbaktérium olyan anyagcseretermékeket termel, amelyek előnyösek az ember egészségére, de nem minden tejsavbaktérium törzs probiotikus.

A probiotikus tejsavbaktériumok alapvetően abban különböznek a közönséges tejsavbaktériumoktól, hogy egy részük túléli a gyomorban lévő sav, a vékonybélben pedig az epesavak és az emésztőenzimek pusztító hatását és így élve jutnak el a vastagbélbe, ahol képesek elszaporodni és megtapadni a bélfalon.

Ilyen előnyös tulajdonsággal pl. a mezofil tejsavbaktériumok nem, míg a joghurt hagyományos törzsei csak részben rendelkeznek. A joghurt-törzsek egy kis része képes ugyan élve eljutni a vastagbélbe, de ott nem kolonizálódnak, nem képesek megtapadni a bélfalon és néhány hét után elpusztulnak, vagy kiürülnek. A nomenklatura szerint tehát igazi „tranzitutasok”, hasznosságuk mégsem kérdőjelezhető meg, mivel elősegítik a probiotikumok adhézióját a bélfalra és hozzájárulnak a rothasztó csírák visszaszorításához. Probiotikus törzsekkel való kiegészítéssel viszont minden közönséges starter kultúra, ill. savanyított tejtermék – így a joghurt is – probiotikussá tehető (SZAKÁLY, 2004).

A törzstulajdonságokat mára nemzetközileg szabványosították és csak azok ismerhetők el nemzetközileg probiotikusnak, amelyek valamennyi tulajdonsága kielégíti az elvárásokat:

- Alapvető a testfolyadékokkal, a gyomorsavval, az epesavakkal, az emésztőenzimekkel szembeni fokozott tűrőképesség.
- Az adott törzs képes legyen megtapadni a bélfalon, vastagítani, erősíteni a mucosagátat, ugyanakkor csökkenteni a patogének megtapadását és antibakteriális anyagokat (pl. bakteriocinek, H_2O_2) termelni a patogének ellen.
- Alapvető elvárások tartoznak a metabolikus aktivitáshoz. Ezek hosszú sorából említendő pl. hogy ne okozzanak D-tejsav acidózist a vékonybélben, alacsony legyen a biogén amin termelésük, ne termeljenek, ill. erőteljesen szorítsák vissza a karcinogenezisért felelős enzimek termelődését, kössék meg a karcinogén anyagokat, védjenek a fertőzésekkel szemben, rövid szénláncú zsírsavak (SCFA) termelésével erősítsék a GALT (gut associated lymphoid tissue) immunfunkcióját, ne termeljenek toxikus és hemolitikus anyagokat, ne vigyenek át nemkívánatos génállományt a káros csírákba és korántsem utolsó sorban ne okozzanak adverz reakciókat. Az utolsóként említettet tekintik a legkritikusabb tulajdonságnak.
- További elvárás, hogy a savanyú tejtermékekben, ill. a por alapú étrend kiegészítőkből minél nagyobb hányaduk, minél hosszabb ideig maradjon életben.
- Metabolikus aktivitásukat és jótéteményeiket – a laboratóriumi és állatkísérletek mellett – humánklinikai vizsgálatokkal kell igazolni (SZAKÁLY, 2004).

Probiotikumok alkalmazása a tejipari technológiában

A probiotikus élelmiszerek piacát szinte kivétel nélkül a tejtermékek uralják. A fejlett nyugati országokban az összes fermentált tejtermék és tejkészítmény között mintegy 25%-ot képviselnek a probiotikus mikroorganizmusokkal előállított termékek. Számos kutatás irányul arra, hogy a probiotikumok a savanyított tejkészítmények mellett tejdesszertek, jégkrém, sajt, szójatej és szójajoghurt előállításánál is teret nyerjenek (HEKMAT & McMAHON, 1992, DINAKAR & MISTRY, 1994, BLANCHETTE et al., 1996). A világon előállított néhány jellemző termék neve és az előállításához használt starterkultúra a melléklet 8. sz. táblázatában látható.

Számos hazai fejlesztésű termék is gazdagítja a probiotikus termékek piacát. Az MTKI (Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet) által kifejlesztett, már kapható, vagy bevezetés előtt álló termékek fajtáit tartalmazza a 6. sz. táblázat.

6. sz. táblázat A MTKI munkatársai által kifejlesztett probiotikus tejtermékek

Márkanév	Termék
Biofir	Probiotikus kefir
Probioghurt	Probiotikus joghurt
HunCult	Probiotikus fermentált ital
Milli	Probiotikus tejföl
Új Party	Probiotikus vajkrém
Aktivít	Probiotikus Túró Rudi
Probios	Probiotikus sajtkrém

(Forrás: SZAKÁLY, 2004)

Sok probiotikus törzs lassan szaporodik a tejben, így megnő a fermentációs idő. A bifidobaktériumok 3:2 arányban termelnek ecetsavat és tejsavat, ezért a fogyasztók számára gyakran nem elfogadható az ízük. Az ilyen termékek gyártásának gyakoribb módja az, hogy a probiotikus törzseket ún. segéd kultúrákkal kombinálják, ami leggyakrabban a *Streptococcus thermophilus* önálló, vagy a *Streptococcus thermophilus* és a *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* vegyes tenyészet. A *S. thermophilus* tenyészet minden probiotikus törzs számára jó túlélést biztosít, s ezek a kombinációk jó ízű termékeket is eredményeznek (SAMONA et al., 1996, GOMES et al, 1998).

A termékek ízének javítására olyan kísérleteket is végeztek, amelyek során élesztőgombákat társítottak a joghurt kultúra és a probiotikus törzsek mellé. A fermentációk során az élesztőgombáknak azt a képességét próbálták kihasználni, hogy képesek a képződő szerves savakat metabolizálni, energiaforrássul felhasználni, s így a képződő nagy mennyiségű sav mennyiségét csökkentve hozzájárulhatnak a termékek ízének javításához. Négy élesztőgomba faj, a *Debaryomyces hansenii*, a *Kluyveromyces marxianus*, a *Yarrowia lipolytica* és az *Issatchenkia orientalis* túlélését vizsgálták probiotikus joghurtban, négy héten keresztül tárolva. Az élesztők 10^7 CFU/g mennyiséget értek el, és képesek voltak a szerves savak, valamint a glükóz és a galaktóz hasznosítására is (LOURENS-HATTINGH & VILJOEN, 2002).

A probiotikus mikroorganizmusokat fagyasztva besűrített, vagy fagyasztva szárított formában állítják elő. Fontos követelmény, hogy a közvetlen felhasználásra alkalmas ún. Direct-Vat-Set (DVS) starter kultúrák sejtszáma a megfelelő technológiai hatás eléréséhez 10^{10} - 10^{11} cfu/g legyen (GOMES et al., 1998, GOMES & MALCATA, 1999). Arra is hangsúlyt kell fektetni, hogy a kész fermentált termékben az élő probiotikus csíraszám 10^8 - 10^9 cfu/cm³ legyen. (SZAKÁLY, 2004). Csak így érhető el, hogy a szükséges mennyiségű tejsavbaktérium bekerüljön a szervezetbe.

2.2.3. A savanyított tejkészítmények összetétele

A fermentált tejkészítmények összetételét részben a kiindulási tej összetétele, részben az alkalmazott színtenyészetek tulajdonságai határozzák meg. Egyes összetevők mennyisége pl. zsírtartalom alig változik a folyamat során, másoké növekszik vagy csökken.

Laktóztartalom

A laktóztartalom csökken a joghurtkészítés során, hisz ez részben átalakul tejsavvá. A laktóz hidrolízistermékeiből, a galaktózból és a glükózból a joghurt eltérő mennyiségeket tartalmaz: a galaktóz tartalom 1% körüli, míg a glükóztartalom egészen csekély.

Aminosav tartalom

A starterkultúrák proteolitikus enzimjei hatására megnő a joghurt szabad aminosav tartalma. A frissen elkészült termékekben az eredeti fehérjék 1-2%-a található szabad aminosav formában. Ezek mennyisége a tárolás során folyamatosan nő (CSAPÓ & CSAPÓNÉ, 2002).

Aromaanyagok képződése

Az aromaanyagok képződése a fermentációs folyamatok jellegzetes velejárója. A joghurt és a kefir legjellemzőbb aromaanyagait a 7. táblázatban tüntettem fel.

7. sz. táblázat A savanyútej és tejszínekészítmények fontosabb aromaanyagai

Termék	Aromaanyagok
Aludttej, tejföl	Szénsav, hangyasav, ecetsav, propionsav, tejsav, diacetil
Joghurt	Hangyasav, ecetsav, propionsav, tejsav, diacetil, acetaldehid
Kefir	Etilalkohol, propilalkohol, hangyasav, ecetsav, propionsav, diacetil, szénsav

(Forrás: BALATONI & KETTING, 1981)

Vitamin tartalom

A tejsavas erjesztés alatt a termékek egyes vitaminokban gazdagodnak. A tejsavbaktériumok (kefirben és kumiszbán az élesztők is) B₁-, B₂-vitamint termelnek. Ezek mennyisége 15-30%-al is emelkedhet (SZAKÁLY 1999). A B₁₂-vitamin szükséges a kultúrák működéséhez, ezért koncentrációja 40-60%-al csökkenhet a tejhez képest (ARKBAGE et al., 2003).

Exopoliszacharidok

Sok tejsavbaktérium termel olyan poliszacharidokat, amelyeket nem épít be, hanem kijuttat a sejtből. Ezeket az anyagokat exopoliszacharidoknak (EPS) nevezik, s vagy a sejtközötti térbe jutva nyálkát képeznek, vagy kívülről a sejtfalhoz rögzülnek, burokként körbevéve azt. A nyálkatermelő kultúrák alkalmazása a technológiában egyrészt javítja a termékek reológiai tulajdonságait, másrészt kedvező hatást gyakorolhatnak az emberi egészségre, mint prebiotikumok (RUAS-MADEIDO et al., 2002).

Tejsír tartalom

A tejsír összetételében már említett konjugált linolsav a fermentált tejkészítményeknek is jellegzetes összetevője. A KLS mennyisége ezekben a termékekben nagyobb is lehet, mint a tejben. Ez annak köszönhető, hogy néhány *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium* és *Enterococcus* törzs képes linolsavból konjugált linolsavat képezni (SIEBER, 2004).

Tejsav

A savanyított tejkészítmények egyik fontos összetevője a tejsav, ami a laktóz lebontása során keletkezik, a tejsavbaktériumok közreműködésével. A szénhidrátok tejsavvá alakulása a biológiai cukorbontás és energiatermelés egyik fő típusa. A tejsavas erjedés homofermentatív és heterofermentatív útját az 1.sz. és a 2.sz. ábra mutatja.

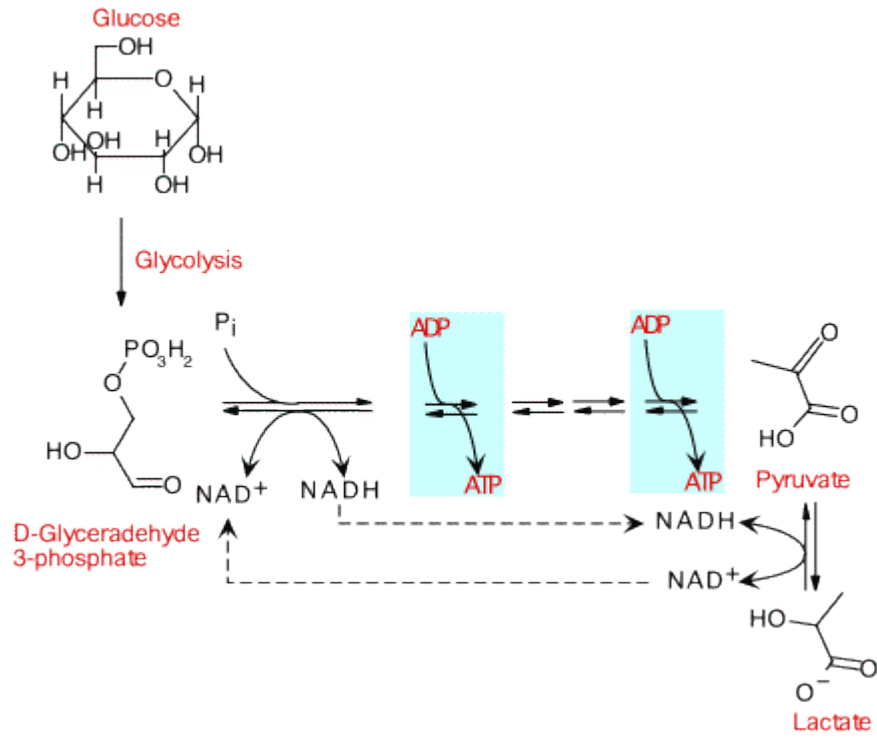
A tejsavnak három módosulata van: L(+)-tejsav, D(-)-tejsav valamint a kettő keveréke, a racém módosulat.

A tejsav két optikai izomerjének eltérő fiziológiás tulajdonságai vannak. Míg az L(+)-tejsav könnyen, addig a D(-)-tejsav gyengén és lassan metabolizálódik. Az ember csak egy részét tudja lebontani a D(-)-tejsavnak, de csak rendkívül kiegyensúlyozatlan és nagy koncentrációban fogyasztott tejsav esetében fordul elő D(-)-tejsav akkumuláció a szervezetben. (CSAPÓ & CSAPÓNÉ, 2002, BELITZ & GROSCH, 1999.).

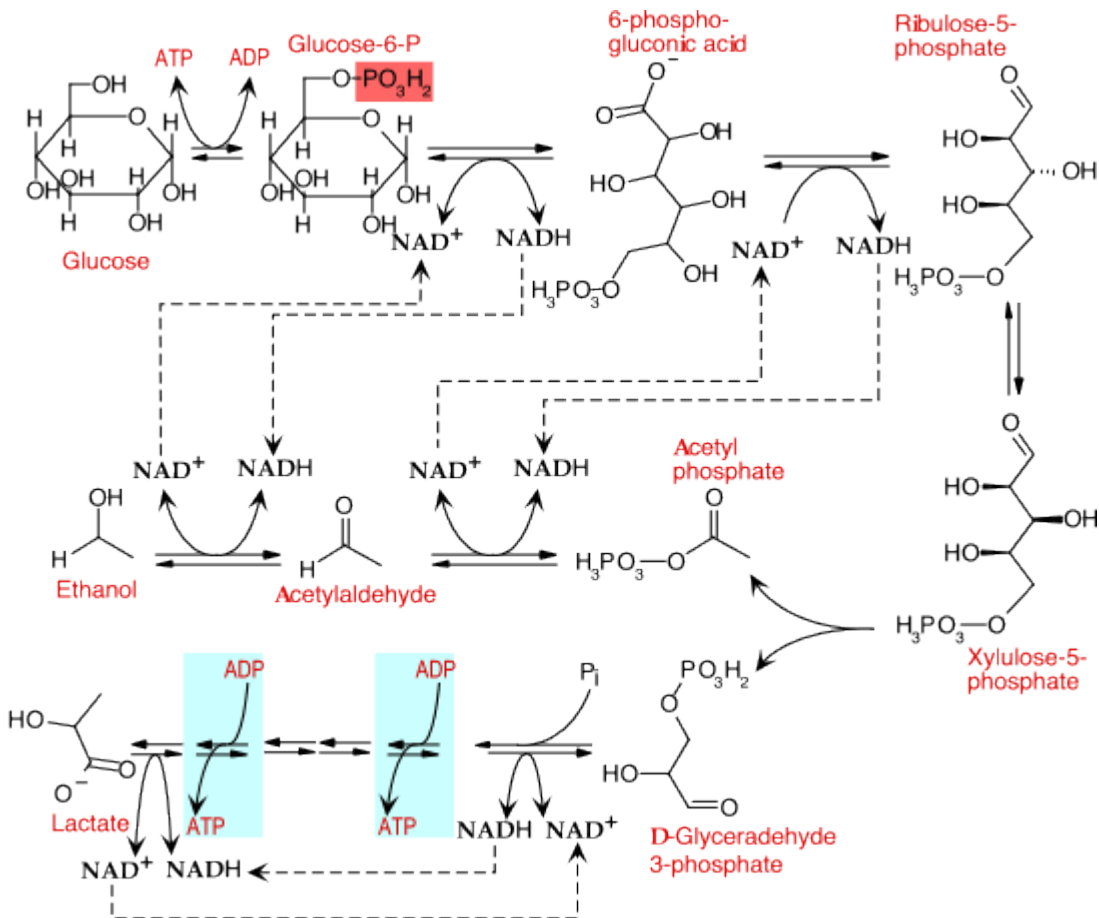
Az emberi szervezetben előforduló D(-)-tejsav lehetséges forrásai a táplálék (elsősorban a joghurt és más fermentációs eljárással készült tejtermékek), a bélbaktériumok által szintetizált, illetve magában a szervezetben szintetizálódott D(-)-tejsav.

Míg bizonyos betegségekben (rövid vékonybél, Colitis ulcerosa, bakteriális infekciók) a megnövekedett D(-)-tejsav koncentráció kedvezőtlen lehet (KALAPOS, 1994), addig a normál táplálkozási körülmények között a szervezetbe jutó D(-) tejsavnak nincs egészségkárosító hatása. Mégis, a biztonságra való törekvés jegyében a FAO/WHO ipari mikroorganizmusokkal foglalkozó munkacsoportja azt javasolja, hogy a tejiparban használatos, biztonságosnak számító tejsavbaktériumok D(-)-tejsav termelő képességét is ellenőrizni kell (FAO/WHO, 2002, WESSELS, 2004).

1. ábra Homofermentatív tejsavas erejedés



2. ábra Heterofermentatív tejsavas erjedés



(Forrás: PAUSTIAN, 2000)

A szintenyészetekkel készült termékek általában mindkét tejsav izomért tartalmazzák, a D-izomer relatív aránya azonban függ az alkalmazott kultúrától és még számos egyéb tényezőtől is, amelyek közül legfontosabb az inkubálás hőmérséklete. A *Streptococcusok* által szintetizált tejsav több mint 92%-a L-izomer, a *L. bulgaricus* pedig szinte csak D-izomert termel. A joghurt fermentációja során főként L(+) tejsav keletkezik, de a D-izomer koncentrációja nő a tárolás folyamán. A savanyú tej, a kefir, az író és a túró D(-) tejsav tartalma rendkívül alacsony, ezzel szemben a hagyományos technológiával készült kefir tejsavtartalmának kb. 50%-a D-izomer (CSAPÓ & CSAPÓNÉ, 2002). A savanyított tejkészítmények D(-) tejsav tartalmát a 8. táblázat, néhány mikroorganizmus D(-) és L(+)-tejsav termelő képességét a melléklet 9. sz. táblázata tartalmazza.

8. sz. táblázat Savanyú tejkészítmények és tejtermékek D(-) tejsav tartalma

<i>Termék</i>	<i>A D(-) tejsav %-os aránya az összes tejsavhoz viszonyítva</i>
Kefir	2-5
Író	3-6
Savanyú tej	4-12
Túró	4-14
Joghurt	25-60
Sajt	10-50

(Forrás: CSAPÓ & CSAPÓNÉ, 2002.)

2.2.4. A savanyított tejkészítmények táplálkozásélettani hatásai

A szintenyészetekkel készített termékek a tejhez viszonyítva számos további előnyös, táplálkozás élettani szempontból fontos tulajdonsággal rendelkeznek.

A fermentáció kiváltotta egyik kedvező változás az, hogy e termékek emészthetősége jobb, mint a tejé. A tejsavbaktériumok által termelt tejsav rendkívül finom csapadék formájában kicsapja a fehérjét. Az apró részecskék óriási felülete lehetőséget ad az emésztőenzimek számára a fehérje lehető legnagyobb felületen való megtámadására és gyors lebontására. Ezenkívül a mikroorganizmusok a fehérje egy részét peptidekké és szabad aminosavakká bontják le, mintegy előemésztik a fehérjét.

A fermentált tejkészítmények még a laktóznál is jobban javítják a kalcium felszívódását, mivel a tejsav a kalciumot lehasítja a fehérjéről és ionos formában könnyebben szívódik fel, mint kötött formában. Kutatók arra a következtetésre jutottak, hogy a tejsav, a laktóz, a D-vitamin és a kalcium speciális kombinációja savanyított tejkészítményekben különösen optimális feltételeket teremt a kalcium felszívódására (CSAPÓ & CSAPÓNÉ, 2002).

Az un. normál tejipari kultúrák mellett egyre szélesebb körben alkalmaznak a fermentációhoz probiotikus törzseket is. A probiotikumoknak sokféle egészségjavító, vagy megőrző hatást tulajdonítanak. Ezek mindegyikének hatásmechanizmusa még nem teljesen tisztázott. Az Európai Unió Bizottsága a kutatási és technológia-fejlesztési programjaiban számos kutatást támogat annak érdekében, hogy tudományos adatok sokasága álljon rendelkezésre ebben a témakörben (MOLNÁR, 2005). A jelenleg is folyó kutatások szerint valószínűsíthető, hogy néhány tejsavbaktérium faj képes:

- Csökkenteni olyan mikrobiális enzimek aktivitását, (pl. β -glükuronidáz, β -glükozidáz, nitroreduktáz, ureáz) amelyek prokarcinogén anyagokat képesek karcinogén vegyületekké alakítani (GOMES & MALCATA, 1999)
- Növelni a szervezet rezisztenciáját a hasmenést okozó fertőzésekkel, különösen a rotavírussal szemben (MARTEAU & RAMBAUD, 1993; MARTEAU et al., 2000)
- Immunrendszer stimulálására (ISOLAURI et al., 2001; YOKOKURA, 1994; KISHI et al., 1996; GILL et al., 2001; NAGAO et al., 2000)
- Tejcukor intolerancia tüneteinek enyhítésére (SCHEINBACH, 1998; KOPPHOOLIHAN, 2001). A probiotikumok egyes törzsei olyan mennyiségű β -galaktozidáz termelésére képesek, hogy a tejcukor-intolerancia gyakoriságát mintegy 80%-al csökkentik. Ez úgy is megfogalmazható, hogy a probiotikus savanyú tejtermékeket (pl. joghurtot) a laktózérzékenyek 80%-a már gond nélkül fogyaszthatja (SZAKÁLY, 2004).

A probiotikus mikroorganizmusok terápiás és technológiai szerepével bőségesen foglalkozik a szakirodalom, az élettani hatásaikkal kapcsolatos kutatásokat egyre nagyobb érdeklődés övezi.

Számos klinikai vizsgálat elemezte a probiotikumok hatását az antibiotikumok okozta hasmenés megelőzésében és kezelésében. Több randomizált tanulmány is igazolta a *Lactobacillus rhamnosus* preventív és kuratív hatását. Szignifikáns csökkenést mutattak ki mind a székletszám, mind a klinikai tünetek tekintetében (ARVOLA et al., 1999; VANDERHOOF et al., 1999.).

Vizsgálatokat végeztek a probiotikumok szerepének tisztázására, az utazók hasmenése (OKSANSEN et al., 1990; MARTEAU et al., 2001.), az irritábilis bél szindróma (O'MAHONY et al., 2005) az ismeretlen eredetű gyulladós bélbetegségek (KASPER et al., 1998., MAO et al., 1996), a *Helicobacter pylori*-fertőzés megelőzésében és kezelésében (BHATIA, et al. 1989., LORCA et al. 2001). Humán adatok szerint az alkalmazott probiotikumok biztonságosak, jól tolerálhatók és hatékonyak tarthatók az antibiotikumok okozta hasmenés, az utazók hasmenése és némely ismeretlen eredetű gyulladós bélbetegség pl. a pouchitis esetében. Egyéb betegségek esetén további randomizált és kontrollált klinikai vizsgálat szükséges (DEMETER, 2006).

2.3. Laktózintolerancia

A leggyakoribb táplálékintolerancia a laktózérzékenység. Táplálékintoleranciáról akkor beszélünk, ha a táplálék, vagy táplálékösszetevők által kiváltott specifikus, reprodukálható, adverz reakció immunológiai, vagy pszichés eltérés nélkül következik be (PÁLFI, 2004).

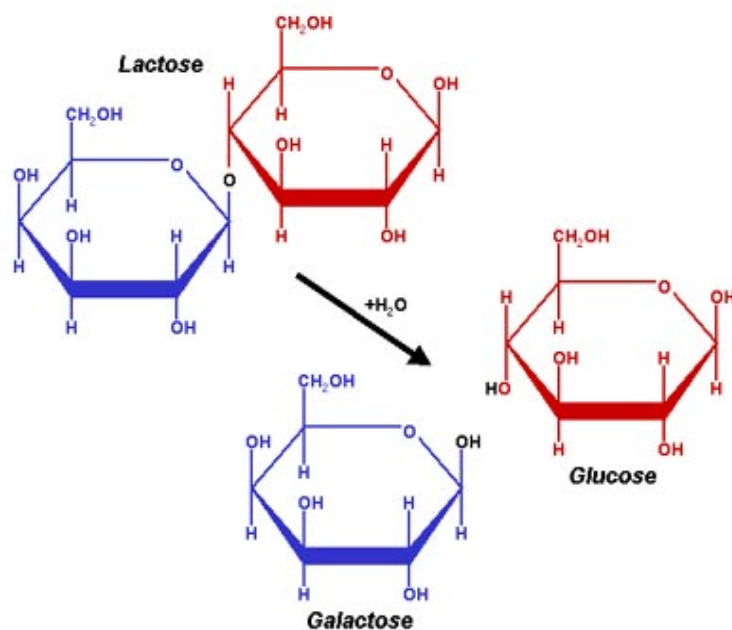
2.3.1. A laktóz bontása, a laktáz enzim

A laktóz diszacharid, amelynek monoszacharid komponensekre kell hidrolizálnia, hogy felszívódhasson. A folyamat a 3. ábrán látható. A laktózt bontó laktáz enzim a glükóz és a galaktóz közötti β 1-4 kötéseket bontja.

Az enzim (β -galaktozidáz) glikoprotein, amelynek nagy hidrofil fejrésze a béllumen felé néz, tehát a vékonybél hámsejtjeinek felszínén lévő mikrovillusok membránjában (ill. ahhoz kötődve) helyezkedik el. Molekulatömege 280 000 Dalton. A többi szénhidrátbontó enzim esetében a monoszacharidfelszívódás határozza meg a felszívódás sebességét. A laktáz esetében más a helyzet, mert viszonylag lassabban hidrolizál, így a laktáz aktivitása limitálja a felszívódást. Valószínűleg létezik egy feed-back mechanizmus, amely nagy mennyiségű monoszacharid felhalmozódása esetén visszahat a diszacharidáz aktivitásra, hogy megakadályozza a monoszacharidok ozmotikus aktivitását a bélben. Laktáz esetében 10mM glükóz vagy galaktóz koncentrációnál már megfigyelhető ez a gátlás. A lassúbb hidrolízis mellett a laktáz másik sajátossága, hogy a szubsztrát-tejcukor bevitel növelésével nem növelhető az aktivitása, szemben pl. a szacharázzal, amelynél a nagyobb szacharózbevitel az enzim aktivitását fokozza. Sajátossága még a laktáz enzimnek, hogy az összes diszacharidbontó enzim közül a legsérülékenyebb, s különböző patológiás hatásokra a legkönnyebben károsodik. Az előbbi sajátosságok miatt a laktóz felszívódásának zavara a leggyakoribb malabszorpció (BODÁNSZKY, 2000).

3. ábra A laktóz bontás folyamata

I



2.3.2. A laktózintolerancia patomechanizmusa és tünetei

Amennyiben a laktázenzim szintje a vékonybélben akár genetikailag, akár más okból kifolyólag bizonyos érték alá csökken, úgy megfelelő mennyiségű tej fogyasztása esetén létrejönnek a laktózintolerancia jellegzetes tünetei. Ilyen egyéneknél a táplálékban lévő tejcukor laktáz hiányában nem bomlik le monoszacharidokra, lejut a vékonybél aborális részébe és a kolonba, ahol ozmotikus hatása révén vizet von el, megnöveli a béltartalmat és kedvező szubsztrátumot jelent az ascendáló baktériumok számára. A bakteriális erjedés következtében nagy mennyiségű gáz (H_2 , CO_2 , metán stb.) keletkezik különféle kis molekulatömegű szerves savak mellett. Ez utóbbiak még erősebb ozmotikus hatást fejtenek ki, s egyúttal, mint a bélfal kémiai ingerei, tovább fokozzák a bélperisztaltikát. Ezek után könnyen érthető a kórképben jelentkező tünetek: röviddel a tejfogyasztás után kialakuló hasmenés, hasi görcsök, puffadás, bélkorgás, fokozott gázképződés és flatulencia.

2.3.3. A laktázelégtelenség típusai

A laktózfelszívódási zavarok etiológiai szempontból két csoportra oszthatók: primer (elsődleges) és szekunder (másodlagos) laktózbontási zavarra.

Primer malabszorpció veleszületett típusa

Ez a típus a ritka kórképek közé tartozik. Ebben az esetben a bélhámsejtek kefeszegélyében már a születéskor hiányzik a laktáz. Súlyos tünetekkel fellépő, teljes leromláshoz vezető állapot. Kombinálódhat más diszacharidázhiánnyal is (BODÁNSZKY, 2000).

Primer malabszorpció késői megjelenésű típusa

Ez a típus gyakoribb. Lényege az, hogy normális vékonybél boholystruktúra és hámsejt morfológiai kép mellett a laktáz enzim aktivitása az egyén életkorának előrehaladtával fokozatosan csökken, majd megszűnik. A tünetek tizenéves korban és fiatal felnőtteknél jelentkeznek.

Szekunder felnőttkori laktázelégtelenség

Mivel a nyálkahártya-hámsejtek kefeszegélye minden kóros történés szempontjából igen érzékeny, érthető, hogy a legkülönbözőbb intesztinalis folyamatok szekunder diszacharidáz elégtelenséghez vezetnek. A szekunder laktózmalabszorpció szerzett állapot, következésképp a kiváltó ok megszüntetése után az aktivitás rövidebb hosszabb idő után visszatér. A kiváltó okok a következők lehetnek: hasmenéses állapotok, cöliákia, parasitosis (*Giardia lamblia*), krónikus gyulladáshoz vezető bélbetegségek, immundeficiens állapotok, sebészeti beavatkozások, tumoros betegeknek hasi besugárzás, egyes gyógyszerek (Neomycin, citosztatikumok) stb. (NÉKÁM & SZEMERE, 1994).

2.3.4. A laktózmalabszorpció etiológiája és földrajzi eloszlása

Emlősöknél a születés utáni időszakban a legnagyobb a bélbeli laktázaktivitás. Az anyatejről való leválasztás után az aktivitás többnyire csökken. Átmeneti hypolactasia szinte minden emberben előfordul élete folyamán bélfertőzés, hasmenések kapcsán. A háttérben ilyenkor a bélhámsejtek mikrovillusainak sérülése áll. A kiváltó ok megszűnését követően az abszorpció általában gyorsan

rendeződik. Az un. késői megjelenésű laktázelégtelenség vagy „adult” hypolactasia esetén teljesen normális szövettani és elektronmikroszkópos lelet mellett sem mutatható ki laktázaktivitás a vékonybélben.

SOLOMONS (2002) adatai szerint a világ felnőtt lakosságának mintegy 75%-a küzd laktóz felszívódási zavarokkal. Az egyes etnikai csoportok között jelentős különbségek fedezhetők fel. Míg a skandináv és a kaukázusi népek között 5-15% az előfordulási arány, addig az indiánok, amerikai néger, afrikaiak, eszkimók, egyes ázsiai népcsoportok felnőtt lakosságának 70-100%-a nem képes a laktóz megfelelő bontására (METCLAFE et al. 1997). A laktózmalszorpció előfordulási gyakoriságát a Föld különböző országaiban a melléklet 10. sz. táblázata tartalmazza.

A fajok közötti eltérés eredetét sokan a neolitikus korra (időszámításunk előtti 6-10 000 év) vezetik vissza, amikor az akkor élő népek kettéválva mezőgazdák, illetve állattenyésztők lettek. Az állattenyésztő népek újabb és újabb legelők szerzése céljából vándorlásra kényszerültek és kerültek el az Eufrates folyó völgyétől dél-nyugatra, észak-nyugatra, észak-keletre. Ezeknél a népeknél az állatok fejése, a tejipar kifejlesztése stb. által a felnőttek étrendjének tartozéka maradt a tej, és a laktázaktivitás fennmaradt a gyermekkoron túl is.

Alapvetően nem eldöntött kérdés, hogy a laktázhiány vagy a normális laktázaktivitás volt valamikor az emberiségre jellemző. Lehetséges, hogy a laktázaktivitás a bélben azért marad meg, mert a regulátor gén nem állítja le a szintézist a „biológiai programban” megadott időben, vagy a foetalis laktáztól különböző, új enzim szintetizálódik. Az utóbbi lehetőséget támasztja alá az, hogy a kétféle laktázt emberben is kimutatták: a foetalis laktáz szénhidrát oldallánca szialsavat tartalmaz, míg a felnőttekben ez nem mutatható ki. Nem ismert alapvető bizonyíték arra vonatkozóan, hogy azokban, akikben megszűnik az enzimaktivitás, a laktáz bioszintézisének csökkenése, vagy abnormalis protein szintézis áll-e a háttérben (BODÁNSZKY, 2000).

Magyarországon végzett felmérés szerint lakosság 14 %-a szenved laktóztoleranciában (SZAKÁLY et al., 1983). BODÁNSZKY (2000) adatai szerint a fiatal iskoláskorúak (6-14 év) 6,2%-a, a serdülők és fiatal felnőttek (15-19 év) 6,62%-a és a felnőttek (30-49 év) 14,66%-a szenved laktóztoleranciában. Ezen belül a nőkben magasabb előfordulási arányt találtak. BÁRDOS (2000), a Laktózérzékenyek Társaságának elnöke 2-3 millióra becsüli a magyarországi laktózérzékenyek számát.

2.3.5. A laktázdeficiencia diagnosztikus lehetőségei

Táplálkozási anamnézis

A táplálkozási anamnézis vizsgálatokor fő szempont a tej és tejtermékek iránti érdeklődés. A naponta felvett laktóz összmenyiségét és napi eloszlását kell megállapítani. Tejtermékek fogyasztása után a jól ismert tünetek jelentkeznek, s ez felvetheti a laktózintolerancia gyanúját. Meg kell említeni, hogy kisebb mennyiségű laktózt tartalmazó tejtermékek, vagy pl. 2 dl tej elfogyasztása, fennálló laktázelégtelenség esetén sem mindig okoz panaszokat.

Laktóztérheléses teszt

Reggel éhgyomorra vízben oldva 50 g laktózt adnak. Ezt követően a vizsgált egyénnél a klinikai tünetek fellépését várják. Ez a vizsgálati módszer rendkívül egyszerű, de nagy a pontatlansága.

Laktóztérheléses teszt vércukorszint méréssel

Az egyik legszélesebb körben használt módszer, melynek során általában 3 órán keresztül 30 percenként végzik a vércukorszint vizsgálatát. Ha nem áll fenn reszorpciós zavar, akkor a normális laktázaktivitással rendelkező embereknél a vércukorszint emelkedése az 1,1 mmol/l értéket meghaladja. Kóros esetben a vércukorszint emelkedése ez alatt marad és a szubjektív tünetek is jelentkeznek.

Kombinált xilóz-laktóz teszt

A fent leírt laktózintolerancia teszt leegyszerűsíthető, ha a xilózt és a laktózt egyszerre adjuk. Ezek után a vércukorszint növekedését a diszacharidázaktivitás paramétereként, a xilóz növekedését a reszorpció paramétereként használjuk.

Kilégzett ¹⁴CO₂ próba

¹⁴C-vel jelzett laktózt adnak a betegnek, majd a felszívódás mértékére a kilégzett levegő ¹⁴CO₂-tartalmából következtetnek, amelyet 4 órán keresztül félóránként vizsgálnak folyékony szcintillációs spektroszkóppal. A módszer körülményes, de igen megbízható.

Kilégzett hidrogén (H₂) próba

E próba azon alapul, hogy egészséges emberben csak az ileum distalis részén és a vastagbélben van H₂-képző baktériumflóra, ahová jó emésztési és felszívódási viszonyok esetén nem kerülhet lebontatlan szénhidrát. Normális esetben is tartalmazhat a kilégzett levegő kisebb-nagyobb mennyiségben H₂-t, de ezt messzemenően az illető egyén táplálkozási szokásai, étrendje határozza meg.

Laktóztoleranciában a táplálékban lévő tejcukor nem bomlik le monoszacharidokra, ezáltal képtelen felszívódni és ez a már említett tünetek mellett kedvező szubsztrátumot jelent az ascandáló baktériumoknak. A bakteriális erjedés következtében nagy mennyiségű gáz (H₂, CO, metán) keletkezik, különféle molekulatömegű szerves savak mellett. A H₂ jó diffuzibilitása és bélben levő nagy koncentrációja következtében bejut a vérkeringésbe, onnan a tüdőbe, s mintegy 16%-a a kilégzett levegővel távozik a szervezetből. Mivel más endogén H₂-forrás a szervezetben nem található és a kilégzett levegő H₂ tartalma és a bélben képződött H₂-gáz között igen jó a korreláció ($r=0,94$), ezért a lehelet H₂-tartalma az intestinalis H₂-termelés jelzőjeként használható (BODÁNSZKY, 2000). E vizsgálat alkalmazható még vékonybél baktérium kontamináció, passzázs-idő vizsgálatára is. A módszer téves negatív eredményt adhat csökkent bélflóra, akut hasmenés, per os antibiotikus kezelés és olyan baktérium-túlburjánzás esetén, amely nem metabolizálja a szénhidrátot.

Vékonybél biopszia

A legpontosabb módszer a vékonybél biopsziával vett mintából való laktázmeghatározás. A Treitz-szalag alatt, a duodenojejunalis átmenettől mintegy 30 cm-re kell a mintát venni, laktózt alkalmazva szubsztrátumként. Még pontosabban végezve a vizsgálatot meg kell határozni az egyéb diszacharidázaktivitást is és meg kell adni a maltáz-laktáz aktivitási hányadosát. A módszert önmagában a laktóztolerancia kimutatására nemigen használják.

Széklet-pH és a tejsavképződés mérése

A szénhidrátok bakteriális bontása következtében a bélben különböző savanyú lebomlási termékek keletkeznek (tejsav, ecetsav, kis mennyiségű hangyasav, propionsav, izovajsav, izovaleriánsav), amelynek következtében a széklet pH-ja csökken, s ez könnyen mérhető. A széklet tejsavtartalma is

mérhető, azonban egyik teszt sem specifikus, mivel más okból bekövetkező hasmenések esetén is pozitív eredményt adhat (NÉKÁM & SZEMERE, 1994).

2.3.6. A laktóztolerancia terápiás lehetőségei

A terápia a gyógyszeres kezeléssel, illetve a dietoterápiából áll.

Gyógyszeres terápia

A gyógyszer tulajdonképpen a hiányzó enzimet pótolja, jelenleg Lactase rágótabletta formában kerül forgalomba (régebben Galantase-ként volt ismeretes). Adagolása egyénre szabott és függ az intolerancia mértékétől, valamint az elfogyasztott laktóz mennyiségétől. Egy rágótabletta enzimaktivitása kb. 200 ml tej (10 g laktóz) elfogyasztásához elegendő.

Dietoterápia

A diéta alapja, hogy a tüneteket kiváltó tejcukrot a szükséges – az egyéni toleranciának megfelelő - mértékig kiiktassák az étrendből. Táplálkozásélettani szempontból azonban a tej – egyéb komponensei miatt – nem eliminálható teljesen az étrendből.

A tej természetes, átlagos laktóztartalma (5g/100 cm³) már panaszokat vált ki a legtöbb laktóztoleráns betegnél. Ezért kiiktatják a tejet az étrendből, vagy az intolerancia mértékétől függően engedik meg a fogyasztását általában 50–200 cm³-ig. Ugyanígy járnak el az íróval, a különböző reggeli italokkal, ízesített tejkészítményekkel. A Minnesota Egyetemen 1996-ban végzett vizsgálatok eredményei azt mutatják, hogy étkezésenként 2g tejcukor elfogyasztása nem okozott tüneteket a pácienseknél, s a kilégtett hidrogén mennyiségében sem volt szignifikáns különbség a 0g laktózt tartalmazó táplálékhoz képest (HERTZLER et al., 1996).

A savanyított tejkészítmények tejcukortartalma a készítésükhöz használt mikroorganizmusoknak köszönhetően 20-40%-kal kevesebb, mint a tejé. Ezenkívül irodalmi adatok szerint ezek a tejsavbaktériumok, így elsősorban a *Streptococcus thermophilus*, a *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* valamint a *Bifidobacterium longum* elegendő bakteriális laktázt szállítanak a vékonybélbe (KOPP-HOOLIHAN, 2001; SAVIANO et al., 1984), így az egyéni érzékenységtől függően kisebb-nagyobb mértékben fogyaszthatók.

A túró megfelelő korlátozással fogyasztható, hiszen laktóztartalma alacsonyabb a savanyított tejkészítményekénél. A félkemény, kemény sajtok laktóztartalma is csökken az érlelési eljárások következtében.

A súlyos, primer intolerancia esetén a laktózmentes termékeket, valamint a gyógyszeres kezelést helyezik előtérbe (PÁLFI, 2004).

2.3.7. Laktózmentes tejkészítmények előállítása

A laktózmentes kifejezés azt jelenti, hogy a termék tejcukortartalma kevesebb, mint $0,1\text{g}/100\text{cm}^3$ vagy $0,1\text{g}/100\text{g}$.

A kívánatos mértékű laktóztartalom-csökkentés többféle technológiai eljárással elérhető:

- Ultraszűréssel eltávolítható a tejcukor, viszont sok más értékes anyag, vízdoldható vitaminok, ásványi anyagok, fehérjék is távoznak a szűrletből (BABELLA, 1982; BABELLA, 1989; JANCSÓ & BABELLA 1981; PUHAN, 1989; ROSSI et al., 1981, TAKÁCS 1997).
- Enzimes hidrolízis: A mikroorganizmusokból kivont β -galaktozidáz enzim a tejhez adagolva a tejcukrot glükózra és galaktózra bontja (FACSKÓ et al., 1981). A laktóz ilyen módon történő bontásának lehetőségét már az 1950-es évek elején felismerték, de alkalmazásához ki kellett dolgozni az ipari méretű laktózhidrolízishez szükséges nagy mennyiségű enzim kinyerésének módját (HOLSINGER, 1978).

Az enzimek legfontosabb tulajdonságai a laktózhidrolízissel foglalkozó gyártók számára: a tisztaság, az aktivitás és az ár. A költségek szempontjából nem közömbös, hogy milyen módszert alkalmaznak a hidrolízisnél.

- A folyékony enzim tejhez való közvetlen adagolása: A tejmennyiséghez kimérik a szükséges enzimet és belekeverik. Ez a módszer a hidrolízis során állandó keverést igényel.
- Enzim-visszanyerés ultraszűréssel: A nagy molekulájú enzimfehérjék ún. enzimreaktorban elhelyezett, speciálisan kialakított membránokon felfoghatók és regenerálás után újra felhasználhatók.
- Immobilizált enzimtechnológia: Az enzim újra és újra felhasználható, ehhez azonban alkalmas hordozóanyag és rögzítési technika kidolgozására volt szükség. Az enzimrögzítés előnyei: többszöri újrafelhasználás, folyamatos gyártás, állandó termékminőség, nincs fehérje (enzim)-kicsapódás, kis reaktorméret szükséges. Hátrányai: az aktivitás csökkenése, a rögzítési eljárás költségei, nagyobb technikai és

pénzügyi kiadások, a mikrobiális fertőzés veszélye (WASSERMANN, 1984). Ezeket a hátrányokat küszöböli ki egy új, Ausztriában kidolgozott eljárás, amellyel laktózszegény tejet állítanak elő, rögzített enzimmel, steril szűréssel és UV besugárzással (NOVALIN et al., 2005)

Az enzimes hidrolízis elvégzése után a kapott tej íze a szokásosnál kissé édesebb, de nem túl édes. Irodalmi adatok (FACSKÓ et al., 1981) szerint a tárolás során a laktózhidrolizált tartós tej 40-50%-kal gyorsabban romlott meg, ami azzal magyarázható, hogy a keletkezett monoszacharidok kémiai reakciói gyorsabbak, mint a tejcukoré. 10 °C alatti hűtőtároláskor ez a gyorsabb romlás azonban alig észrevehető.

Jelenleg enzimes hidrolízissel a Naszálytej Rt. készít laktózmentes, a Parmalat cég pedig csökkentett laktóztartalmú fogyasztási tejet Magic Milk, illetve Zymil néven. Az előbbi laktóztartalma 0,1g/100cm³ az utóbbié 0,9g/100cm³.

Laktózmentes joghurt előállítására is kidolgoztak többféle eljárást. Az egyik technológia szerint a tejet két lépcsőben fermentálják. Az első lépcsőben a tejet beoltják a kiválasztott mikroorganizmus kultúrával, s egy puffertartályban 45°C-on fermentálva a keletkezett tejsavat NaOH és KOH elegyével közömbösítik. A második fermentációs lépcsőben az előfermentált anyagot csomagolóanyagba (poharakba) töltik, és további 180 percig fermentálják 45 °C-on. A fermentációkhoz *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (Viscolact HSC-2) és *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (ATCC 12315) normál joghurt kultúrát, valamint *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (Viscolact HSC-2) és *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356) vegyes tenyészetét használták. Az eljárás mintegy 6 óra fermentációs idővel biztosított olyan laktózmentes végterméket, amelyben a laktóz csak nyomokban mutatható ki (SZIGETI & KRÁSZ, 1992).

A Naszálytej Rt. munkatársai laktózhidrolizált tejből állítanak elő laktózmentes joghurtot normál joghurt kultúrával (*Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* és *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*), natúr és gyümölcszel ízesített változatban egyaránt. Ezek a termékek jelenleg már forgalomban vannak.

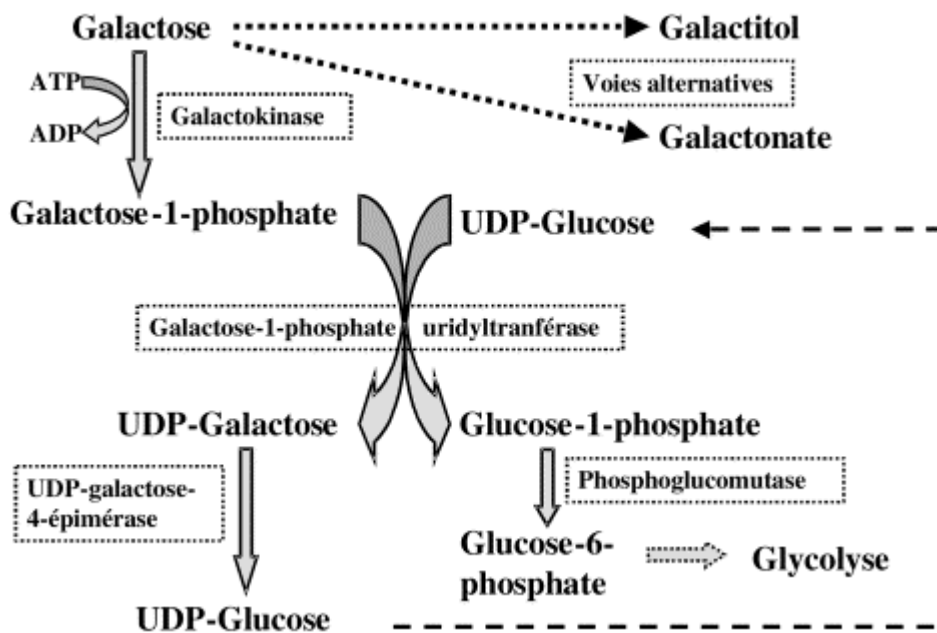
A gyártók által laktózmentesnek nyilvánított élelmiszerek regisztrálását a Semmelweis Egyetem Egészségügyi Főiskolai Karának Dietetikai és Táplálkozástudományi Tanszékén oktató dietetikusok közreműködésével a Magyar Táplálékallergia és Táplálékintolerancia Adatbank végzi. A betegek részére az információt az illető allergéntől mentes – jelen esetben tejcukortól mentes - termékek listáját tartalmazó füzetek kiadásával (MAGYAR TÁPLÁLÉKALLERGIA ÉS TÁPLÁLÉKINTOLERANCIA ADATBANK, 2007), az adatbank honlapjának

(www.taplalekallergia.hu) működtetésével, valamint ingyenes tanácsadással biztosítják a tanszék dietetikus munkatársai.

2.4. Galaktozémia

A galaktozémia ritka, veleszületett, örökletes anyagcserezavar, ami miatt az emberi szervezet nem képes a galaktózt glükózzá alakítani. Előfordulási gyakorisága 1:40 000 – 1:60 000 (EUROPAN GALACTOSAEMIA SOCIETY, 2003). A betegséget O. Thalhammer írta le először 1908-ban, de a tünetekért felelős anyagcsere folyamatokat csak 1949 és 1953 között tisztázták (HOLTON, 1996). A galaktóz átalakítása glükóz származékká több lépcsőben történik. A folyamat lépései a 4. ábrán láthatók. Mindegyik lépcső egy-egy speciális enzimet igényel és bármelyik enzim hiánya különböző súlyosságú kórképeket okoz.

4. ábra A galaktóz glükózzá alakításának lépései (az un. Leloir út)



(Forrás: FORGES & MONNIER-BARBARINO, 2003)

2.4.1. A galaktozémia változatai

Galaktozémiában az átalakulás azért nem megy végbe, mert hiányzik a szervezetből az átalakításért felelős enzimek közül valamelyik (SOMOGYI et al., 1998; HOLTON et al., 1993):

- Galaktokináz hiány
- Galaktóz-1-foszfát-uridil-transzferáz (gal-1-PUT) hiány
- Epimeráz hiány

Galaktokináz hiány

A vér galaktóz szint emelkedése ellenére sem okoz újszülött korban súlyos klinikai tüneteket. A felszaporodott galaktóz azonban galaktóz-alkohol (más néven dulcit, vagy galaktitol) formában lerakódva súlyos szemlencse homályt, úgynevezett kataraktát okoz. Így a galaktokináz hiányban szenvedő csecsemők gyakran születnek kétoldali szemlencse homállyal. Ritkán agyi pszeudotumor is előfordul (BOSCH et al., 2002).

Galaktóz-1-foszfát-uridil-transzferáz hiány, vagy klasszikus galaktozémia

A galaktozémát okozó enzimzavarok közül a leggyakrabban előforduló és a legsúlyosabb (BENDER & BENDER, 1997; SOMOGYI et al., 1998). Akár pár nappal az anyatejes táplálás megkezdését követően súlyos tünetek alakulnak ki: elhúzódó sárgaság, aluszékonyság, táplálási nehézség, súlyvesztés, májmegnagyobbodás, májfunkciós zavarok, hányás, hasmenés, alacsony vércukor (glükóz) szint miatti görcsök, idegrendszeri károsodás, vesekárosodás, vérzékenység, fertőzéshajlam, bakteriális eredetű vérmérgezés (szepszis), amely halálhoz is vezethet (ZIEGLER & FILER, 1996, WALKER, 2000). Ezekért a tünetekért elsősorban a felszaporodott galaktózból képződő toxikus galaktóz-1-foszfát nevű metabolit felelős. Társulhat a kórképhez szemlencse homály is. Az időben elkezdett kezelés a kialakult tüneteket többnyire visszafordítja. A kezelés ellenére jelentkezhetnek problémák a mentális és szellemi fejlődésben (BOSCH et al., 2004). Az esetleges beszédfejlődési problémák és hormon eltérések kivizsgálását a gondozóközpontok végzik.

Epimeráz hiány

A galaktozémia kórf ormái közül a leg ritkább és a legenyhébb. Klinikai tünetek jóformán alig alakulnak ki (SUMMIT, 1990).

Részleges enzimhiány (parciális galaktozémia)

Kb. 1:4000 gyakorisággal születnek olyan gyermekek, akik részleges enzimhiányban szenvednek. Az anyatejes táplálás befejezése után ezen gyermekek klinikai tünetei valamivel enyhébbek, mint a klasszikus galaktozémiasoké. Vezető tünetek az elhúzódó sárgaság, súlyállás, a galaktóz és a galaktóz-1-foszfát felszaporodása a vérben. Ilyen esetekben is fontos a diéta mielőbbi megkezdése. 1 éves kor körül a gondozó orvos felügyeletével, a gyermek pontos gal-1-PUT enzim aktivitásának és genetikai eredményének ismeretében lehet szó a diéta teljes vagy részleges elhagyásáról (SOMOGYI et al., 1998).

Átmeneti galaktozémia

Bizonyos esetekben májbetegségekhez, infekciókhoz, koraszülöttséghez másodlagosan társulhat a galaktóz anyagcsere átmeneti felborulása, mely a vér galaktóz szint emelkedésével jár. Ilyenkor legalább 4 hónapos korig, de a biztonság kedvéért inkább 2 éves életkorig ajánlatos a szigorú kontroll melletti galaktózszegény étrend. Ennek felfüggesztése és az áttérés a normál étrendre csak a gondozó orvos felügyeletével, a tej fokozatos visszaadása melletti vér, vizelet galaktóz és aminosav szintek vizsgálatával engedélyezett (SOMOGYI et al., 1998).

2.4.2. A galaktozémia felismerése, szűrése

Hazánkban 1975 óta folyik minden újszülöttre kiterjedő galaktozémia szűrés a betegség mielőbbi felismerése érdekében. Ennek megszervezésével és bevezetésével Európában az élvonalba tartozunk. A betegség szűrésének európai helyzetét a 9. sz. táblázat adatai mutatják. A szegedi Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem Gyermekklinikája és a Budai Gyermekkorház-Rendelőintézet Anyagcsere Szűrő és Gondozási Központjai végzik a laboratóriumi vizsgálatokat és a kiszűrt betegek gyógykezelésének irányítását.

A szűrőcentrumokba az újszülöttek speciális szűrőpapírra vett vérmintáját az újszülött és koraszülött osztályok postán küldik el. Ebből fenilketonúria, hipertireózis és biotinidáz enzimzavar vizsgálata is folyik a galaktozémia szűréssel párhuzamosan.

A vérminta galaktózsztintjének megállapítására speciális mikrobiológiai módszert un. Guthrie-tesztet használnak. A rendszer olyan mutáns *E. coli* törzssel működik, melyből az emberi galaktozémiahoz hasonlóan hiányzik a galaktóz-1-foszfát-uridil transzferáz enzim. Ha a táptalajra helyezett vérkorongocskában magas a galaktóz tartalom, körülötte a baktérium növekedése gátolt.

A gátló zóna nagyságát ismert galaktóz tartalmú vérmintákkal összehasonlítva következtetni lehet a vérmintában lévő galaktóz mennyiségére (SOMOGYI et al., 1998).

2.4.3. A galaktozémia kezelése: speciális diéta egész életen át

Mind a transzferáz, mind a kináz defektusban mielőbb meg kell kezdeni és egész életen át tartani kell a speciális tejcukor és galaktóz szegény étrendet. A galaktozémia kezelése csakis ennek segítségével oldható meg úgy, hogy az előzőekben felsorolt tünetek ne alakulhassanak ki.

2.4.3.1. A naponta fogyasztható galaktóz mennyisége és a szervezet galaktóz termelő képessége

A napi ajánlott galaktózbevitel egyéni toleranciától függően 25-500 mg (ACOSTA & YANNICELLI, 1993). A napi megengedhető galaktózbevitelt nagymértékben befolyásolja a galaktozémia típusa és az életkor. A gyermekkori anyagcsere betegségekkel foglalkozó orvosok és dietetikusok, hosszú évek alatt összegyűjtött tapasztalataikra alapozva a következő ajánlást rögzítették (SCHWEITZER et al., 1998):

- Csecsemők 50 (-200 mg) galaktóz/nap
- Kisgyermek 150 (-200 mg) galaktóz/nap
- Iskolás gyermek 200 (-300 mg) galaktóz/nap
- Fialatok 250 (-400 mg) galaktóz/nap
- Felnöttek 300 (-500 mg) galaktóz/nap

A napi fogyasztható galaktóz mennyiség számításakor figyelembe kell venni azt a megfigyelést, hogy szigorú galaktózszegény diéta betartása mellett a vérben és a vizeletben megnövekedhet a galaktóz metabolitok koncentrációja. Ezt a jelenséget az endogén galaktóz képződéssel magyarázzák. A galaktóz szintézis mértéke 0,53-1,05 mg/ttkg/óra (BERRY et al., 1995). A galaktóz képződésének útját a szervezetben az 5. ábra szemlélteti.

Vizsgálatokat végeztek olyan klasszikus galaktozémiában szenvedő betegeknél, akik betartották a szigorú galaktozémiás diétát - 40 mg volt a napi maximális galaktóz bevitelük – s mégis komplikációk léptek fel náluk, a galaktóz metabolitok megjelenése következtében. Két héten

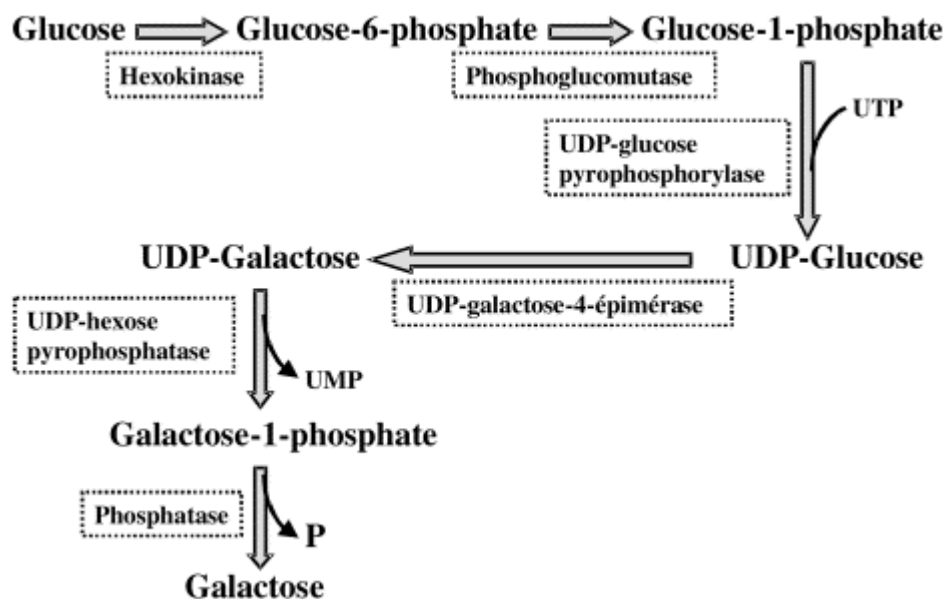
keresztül napi 200, 400, ill. 600 mg dózisban kaptak galaktózt az étkezések mellé, s mérték a vérben, illetve a vizeletben a galaktóz-1-foszfát, illetve a galaktitol mennyiségét. A kísérlet ideje alatt nem találtak szignifikáns különbséget a metabolitok kezdeti és a második hét végi koncentrációja között. Az eredményekből azt a következtetést vonták le, hogy újra kell értékelni – természetesen további mérési eredmények birtokában – a napi galaktóz bevitel alsó határát, mert a túl alacsony galaktóz értékek elősegíthetik a galaktóz szintézisét a szervezetben (BOSCH et al., 2002).

9.sz. táblázat A galaktozémia szűrése Európában

Ország	Szűrőprogram
Ausztria	1966 óta működik
Belgium	csak a Flamand tartományokban van
Dánia	2002 óta működik
Franciaország	nincs
Németország	1978 óta működik, de nem kötelezően
Írország	1972 óta működik
Hollandia	nincs
Norvégia	nincs
Lengyelország	nincs
Spanyolország	nincs
Svájc	1975 óta működik
Egyesült Királyság	Csak Skóciában működik
Magyarország	1975 óta működik

Forrás: European Galactosemia Society, 2006

5. ábra Galaktóz képződés endogén úton



(Forrás: FORGES & MONNIER-BARBARINO, 2003)

2.4.3.2. Élelmiszerek galaktóztartalmának értékelése, beilleszthetőségük a galaktozémias étrendbe

Tiltott élelmiszereknek számítanak tehát galaktozémiában a tej, a tejtermékek, tejkészítmények és minden olyan élelmiszer, étel, amely ezeket tartalmazza.

Sok élelmiszer rejtett formában tartalmaz galaktózt, így nehéz meghatározni, hogy mennyit fogyaszthat belőle a beteg.

A belsőségeken pl. laktozilceramid (KOCH et al., 1963), a velőben galaktocerebrozidok, gangliozidok (HOLTON et al., 2001) formájában, a húsookban kis mennyiségben szabad állapotban, vagy lipidekhez, fehérjékhez kötötten (WEESE et al., 2003) található. A bab, rizs, búzasikér, paradicsom galaktolipidek, a kakaóbab, káposztafélék hüvelyesek raffinóz, a répa, a hagyma, a fokhagyma, a spárga arabinogalaktóz, sztachióz és arabinogalaktán formában tartalmazza a galaktózt (KISS et al., 2000).

Számos gyümölcsben, zöldségfélében (ACOSTA & GROSS, 1995), valamint pektinbontó enzimekkel kezelt almából készült levekben (SCAMAN et al., 2004) szabad állapotban fordul elő a galaktóz. Néhány zöldségféle és gyümölcs galaktóztartalmát a melléklet 11. sz.

táblázatában tüntettem fel, a galaktozemiában tiltott élelmiszerek csoportjait pedig a 10. sz. táblázat tartalmazza.

A galaktozemiás diéta során felmerülő egyik nagy kérdés, hogyan lehet a szervezet számára szükséges és létfontosságú kalciumot pótolni, melynek forrásai főleg a tiltott tej és tejtermékek. Pótlásra a rendszeres tápszerfogyasztást, az ásványvizeket és a pezsgőtabletták naponkénti alkalmazását javasolják (SOMOGYI et al., 1998). A javasolt termékek fogyasztása ellenére, alacsony kalciumbevitelről és ennek egészségügyi következményeiről számolnak be többen is a szakirodalomban (KAUFMAN et al., 1993; DAVIDOVITS et al., 1993; MADSEN & HENDERSON, 1997; RUTHERFORD, et al., 2002; RUBIO-GOZALBO et al., 2002).

Ezért merült fel az igény galaktózmentes, illetve csökkentett galaktóztartalmú tejkészítmények előállítására.

10. sz. táblázat. Galaktozemiában tilos élelmiszerek köre

Élelmiszer csoport	Élelmiszer fajták
Tej és tejtermékek	Mindenféle eredetű tej (anyatej, tehéntej, kecsketej, juhtej stb.), savanyított tejkészítmények (joghurt, kefir, aludttej), tejszín tejföl, sajtok, túró, vaj és minden olyan étel, élelmiszer, amely ezek, valamint kazein, laktóz, tejpor, savó, savópor, író felhasználásával készül
Húsok, húskészítmények	Belsőszervek (máj, vese, lép, agyvelő) vörösáruk, a legtöbb felvágott, kolbászok, hurkák
Zöldségek, gyümölcsök	Borsó, lencse, bab, szója, muskotályos szőlő
Zsiradékok	Vaj, tejes alapú margarinok
Édességek	Ostyák, linzerek, tejsokoládék, kekszek, süteményporok, mogyorókrém
Sütőipari termékek	Kifli, stangli, briós, puffancs, kalács, kétszersült, hajtogatott tészták, torták stb.

(Forrás: THOMAS, 1983)

2.4.3.3. Kísérleti tejkészítmények galaktozémiasok számára

Mivel ritkán előforduló betegségről és kis létszámú betegcsoportról van szó, ezért a felmerülő igény ellenére csak néhány próbálkozás történt az élelmiszeripar, illetve az élelmiszerkutatás részéről a galaktózszegény élelmiszeripari termékek, így a tejkészítmények, tejtermékek kifejlesztésére.

FIEHRING és munkatársai 1970-ben kísérleteket végeztek olyan speciálisan adaptált mikroorganizmusok – *Saccharomyces fragilis* és *Saccharomyces lactis* - segítségével amelyek a laktóz hasítására és a keletkezett galaktóz és glükóz eltávolítására alkalmasak.

Az adaptáció során az egyspórás tenyészetet galaktóz és laktóz tápközegben előtenyésztették. Több mint két éves adaptációs időszak után a 7% laktóz és 2% galaktóz tartalmú 1,5%-os vizes pepton oldatban az élesztők képessé váltak a laktóz hasítására, majd először a glükóz, később a galaktóz alkohollá és széndioxiddá alakítására.

Az adaptált élesztőket sterilizett, 5,4-6 pH értékű tejbe oltották literenként 1-5 cm³ mennyiségben, majd 33 °C-on fermentálták. Ezen a hőfokon 10 nap alatt, 18 °C-on végzett fermentációval 21 nap alatt kaptak laktóz, glükóz és galaktóz mentes tejet. Az így előállított tej érzékszervi tulajdonságait nem ismertették a szerzők, s a termék nem került kereskedelmi forgalomba sem.

Magyar kutatók kétlépcsős fermentációs eljárást dolgoztak ki laktóz mentes és galaktóz szegény joghurt és acidophilus tejkészítmény előállítására.

Az első lépcsőben tej és tejfehérje koncentrátum keverékéből csökkentett laktóztartalmú tejet állítottak elő, majd ezt a tejet oltották be *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (Viscolact HSC-2), *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (ATCC 12315), valamint *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* (Viscolact HSC-2) és *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356) vegyes tenyészeteivel. A fermentáció során keletkező savat KOH és NaOH keverékével közömbösítették. Az így előfermentált tejet egy második fermentációs lépcsőben tovább fermentálták. A normál joghurt esetében összesen 6 órányi fermentációs idő után a galaktóz mennyisége 1350 mg/100 cm³, míg az acidophilus tejkészítmény esetében 450 mg/100 cm³ volt (SZIGETI & KRÁSZ, 1992). A szerzők a termékek érzékszervi bírálatáról nem számoltak be.

3. Anyagok és módszerek

Kísérleteimet a Corvinus Egyetem Élelmiszertudományi Kar Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszékén, valamint a Semmelweis Egyetem Egészségügyi Főiskolai Kar Dietetikai Tanszékén végeztem.

3.1. Alapanyagok

3.1.1. A laktózmentes fermentált tejkészítmények előállításához használt alapanyag

A fermentációkhoz alapanyagként laktózhidrolizált tejet (LHT) használtam. A Naszálytej Rt. által előállított, ultrapasztőrözött tejben a laktóztartalmat a technológia során a tejhez adagolt β -galaktozidáz tartalmú enzimekkel lebontják. A laktózhidrolizált tej összetétele a 11. sz. táblázatban látható. Ezt a tejet oltottam be a kiválasztott mikroorganizmus kultúrákkal.

3.1.2. A csökkentett galaktóztartalmú fermentált tejkészítmények előállításához használt alapanyagok

Ezekhez a fermentációkhoz alapanyagként ugyancsak a Naszálytej Rt. által előállított laktózhidrolizált tejet (LHT), valamint a Numil cég által forgalmazott Pregomin (PR) és Nutrilon (NU) nevű galaktózmentes tápszereket használtam.

A tápszerek használatának célja az volt, hogy a tej kezdeti galaktóz tartalmát tej - tápszer keverékek készítésével lecsökkentsem, elősegítve ezzel, hogy a fermentáció végére a galaktóz tartalom a kívánatos értéknél kisebb legyen. A keverékekben két rész tej és egy rész tápszer arányt alkalmaztam. A továbbiakban az ábrákon és a táblázatokban a keverékeket 2LHT:1PR, illetve 2LHT:1NU rövidítéssel jelölöm.

A kétféle tápszer összetétele és íze különböző, így mind a mikroorganizmusok szaporodására, ezen keresztül a galaktózcsökkenés mértékére, mind a termékek érzékszervi tulajdonságaira ez az eltérés hatással lehet.

Mind a tejet, mind a tej-tápszer keverékeket beoltottuk a kiválasztott mikroorganizmus kultúrákkal.

A laktózhidrolizált tej és a galaktózmentes tápszerek makrotápanyagainak mennyiségét a 11. sz. táblázatban tüntettem fel, a tápszerek részletes összetételét pedig a melléklet 12. sz. táblázatában.

11. sz táblázat A laktóz hidrolizált tej és a galaktózmentes tápszerek összetétele

Alapanyag	Fehérje	Zsír	Összes szénhidrát	Laktóz	Galaktóz
	g/100cm ³	g/100cm ³	g/100cm ³	g/100cm ³	g/100cm ³
Nutrilon*	1,8	3,6	6,7	0,0	0,0
Pregomin*	2,0	3,6	8,6	0,0	0,0
Laktóz hidrolizált tej	3,3	2,2	4,5	0,1	2,2

*100 cm³=90 cm³ víz+15g tápszer steril vízzel kiegészítve

3.2. Mikrobiológiai vizsgálati anyagok és módszerek

3.2.1. A fermentációkhoz használt mikroorganizmusok

A mikroorganizmusok kiválasztásánál alapvető szempont volt, hogy jó galaktózbontó képességgel rendelkezzenek, valamint kellemes ízű és illatú aromaanyagokat termeljenek. Fontosnak tartottam, hogy az emberi egészségre jótékonyan ható probiotikus mikroorganizmusok is legyenek közöttük. Mindezek alapján a fermentációkhoz a következő törzseket használtam:

- *Streptococcus thermophilus* + *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (N71)
- *Bifidobacterium bifidum* (N1)
- *Lactobacillus helveticus* (N43)
- *Lactobacillus acidophilus* (N42)
- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* + *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* + *Lactobacillus casei* + *Lactobacillus kefir* + *Candida kefir* (H 047 kefir kultúra)
- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* + *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* + *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* + *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* + *Lactobacillus kefir* + *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* + *Saccharomyces unisprous* (Probat KC1 kefir kultúra)

A törzseket a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteménye, a Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet, valamint a Naszálytej Rt. bocsájtotta rendelkezésemre.

3.2.2. A probiotikus törzsek szénhidráterjesztésének ellenőrzése

A probiotikus tejsavbaktériumok (*Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus helveticus*) valamint a *Bifidobacterium bifidum* szénhidráterjesztő képességét API 50 CHL gyorsteszt segítségével ellenőriztem (<http://industry.biomerieux-usa.com>).

A gyorsteszt beoltása előtt a tejben liofilizált törzs reszuszcitálását steril tejben, 37 °C-on, 24 órás tenyésztéssel végeztem el. A koagulátumból MRS tápagar (MERCK, 2000) felületére szélesztettem, majd az inkubáció után kifejlődött szoliter telepek tisztaságát mikroszkópos morfológiai vizsgálatokkal, valamint kataláz próbával ellenőriztem. Tárgylemezen kivitelezett próbák:

- Gram pozitív sejtfalfestődés (rögzített, festett preparátum Hucker szerint, amely alkalmas volt az alak és csoportosulás vizsgálatára is)
- Natív preparátum a mozgás hiányának mikroszkópos ellenőrzésére
- A valódi kataláz enzim hiányának ellenőrzése (5%-os H₂O₂ alkalmazása a negatív próba megerősítésére)

Az előzetes tárgylemezpróbák után a szoliter telepekből brómkrezolbíboros, szénhidrát nélküli MRS levesbe szuszpendáltam, majd leoltást végeztem a kontroll, valamint a 49 különböző szénhidrátot tartalmazó kamra rehidráálásával. A kamrák steril paraffin olajjal történő lezárása az anaerob tenyésztést biztosította.

A vizsgált szénhidrátok erjesztése esetén a brómkrezolbíbor indikátor sárgára változik, amelyet 24, 48 és 72 óra elteltével ellenőriztem, 37 °C-os inkubálást alkalmazva.

Az erjesztési próbához alkalmazott szénhidrátokat a melléklet 13. sz. táblázatban soroltam fel.

3.2.3. Antibiotikum érzékenységi próba

A probiotikus törzsek antibiotikum érzékenységét a HUMAN Rt. által gyártott Resistest baktériumérzékenység-meghatározó korongok segítségével vizsgáltam, a gyártó által mellékelte használati utasítás szerint, módosított Müller-Hinton-féle táptalajon, melynek összetételét a melléklet 14. sz. táblázatában tüntettem fel. A kiöntött és megszilárdult táptalajra szélesztettem a vizsgálandó baktérium 6 órás bouillon-tenyészetét, majd az ily módon beoltott és néhány percig szárított táptalajra helyeztem a Resistest-korongokat. 30 perces szobahőmérsékleten tartás után a lemezeket 43 °C-os termosztátban 18 órán keresztül inkubáltam. Ezután a korongok körül megjelenő gátlási zóna átmérőjéből tudtam következtetni a vizsgált baktérium érzékenységére. Ha a gátlási zóna átmérője 20 mm-nél nagyobb, a kérdéses törzset érzékenynek, 20-11 mm átmérőjű gátlási zóna esetén mérsékelten érzékenynek és 11 mm alatt rezisztensnek kell tekinteni.

3.2.4. Inokulum készítése

Probiotikus és joghurt kultúrák inokulumának elkészítése

A *Lactobacillus acidophilus*, a *Lactobacillus helveticus*, a *Bifidobacterium bifidum* tiszta tenyészeit külön-külön oltottam a laktózhidrolizált tejbe, majd 37 °C-on 24 órán keresztül inkubáltam. A *Streptococcus thermophilus* + *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* vegyes tenyészetét szintén laktózhidrolizált tejbe oltva, 45 °C-on 3 órán keresztül inkubáltam.

Kefir kultúrák inokulumának elkészítése

A *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* + *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* + *Lactococcus casei* + *Lactobacillus kefir* + *Candida kefir* (H 047) fagyasztva szárított vegyes tenyészetét 0,1%-os mennyiségben laktózhidrolizált tejbe oltottuk, majd 25 °C-ra beállított termosztátban 24 órán keresztül inkubáltuk.

A *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* + *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* + *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* + *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* + *Lactobacillus kefir* + *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* + *Saccharomyces unisprouis* (Probat KC1) mélyhűtött állapotban forgalmazott vegyes tenyészetét 0,1%-os mennyiségben laktózhidrolizált tejbe oltottuk, majd 25 °C-on 24 órát inkubáltuk.

3.2.5. Inokulálás

A joghurt kultúrát, a kefir kultúrát, valamint a probiotikus baktériumok vegyes tenyészeit Erlenmeyer lombikban lévő 300 cm³ sterilizált laktózhidrolizált tejbe oltottuk, minden esetben 3%-os mennyiségben.

- *Streptococcus thermophilus* ($3,3 \times 10^7$ CFU*/cm³) + *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ($7,7 \times 10^6$ CFU/cm³)
- *Bifidobacterium bifidum* ($1,05 \times 10^7$ CFU/cm³) + *Lactobacillus helveticus* ($9,7 \times 10^6$ CFU/cm³)
- *Bifidobacterium bifidum* ($1,9 \times 10^7$ CFU/cm³) + *Lactobacillus acidophilus* ($4,4 \times 10^6$ CFU/cm³)

- Kefir kultúrák esetében az élesztőszám $5,6 \times 10^4 - 6,4 \times 10^4$ CFU/cm³, míg a mezofil tejsavbaktériumok száma $9,3 \times 10^5 - 1,3 \times 10^6$ CFU/cm³

*CFU=colony forming unit

3.2.6. Fermentációk

A laktózhidrolizált tejet és a tej tápszer keverékeket a kultúrák jellegének megfelelő és attól eltérő hőmérsékleten is fermentáltam. A fermentációs időket a normál tejipari technológiában használthoz képest kétszeresre növeltem.

3.2.6.1. Fermentációk laktózhidrolizált tej alapanyaggal

A fermentációkat két párhuzamos mintával és háromszoros ismétlésben végeztem a joghurt kultúra és a probiotikus kultúrák esetén, a tejipari technológiában előírt hőfokokon. A kefir kultúrákkal szintén két párhuzamos mintával és kétszeres ismétléssel dolgoztam, a tejipari gyakorlattól eltérő hőfokokon is:

- *Streptococcus thermophilus* + *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 45 °C
- *Bifidobacterium bifidum* + *Lactobacillus helveticus* 45 °C
- *Bifidobacterium bifidum* + *Lactobacillus acidophilus* 43 °C
- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* + *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* + *Lactobacillus casei* + *Lactobacillus kefir* + *Candida kefir* 20 °C
25 °C
30 °C
- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* + *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* + *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* + *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* + *Lactobacillus kefir* + *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* + *Saccharomyces unisporus* 25 °C

3.2.6.2. Fermentációk tej-tápszer keverékekkel

Mivel a laktózhidrolizált tejjel végzett fermentációk során nem minden esetben értem el kellő mértékű galaktóz tartalom csökkenést, még a megnövelt fermentációs idővel sem, szükségesnek

tartottam a fermentációk elvégzését a két rész tej és egy rész tápszert tartalmazó 2LHT:1PR illetve 2LHT:1NU keverékekkel is.

Ezzel a művelettel a fermentálásra kerülő alapanyag kezdeti galaktóztartalmát átlagosan 30%-al lecsökkentettem. A monoszacharidok koncentrációjának csökkentésétől azt vártam, hogy a kisebb mennyiségben rendelkezésre álló energiaforrást a mikroorganizmusok intenzívebben metabolizálják, s így jelentősebb mértékű galaktóztartalom csökkenést érhetek el azonos hosszúságú fermentációs idő alatt.

A fermentációkat minden esetben két párhuzamos mintával kétszeres ismétlésben végeztem, a következő tenyészetekkel és hőfokokon.

- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* + *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* + *Lactobacillus casei* + *Lactobacillus kefir* + *Candida kefir*

20 °C
25 °C
30 °C
- *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* + *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* + *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* + *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* + *Lactobacillus kefir* + *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* + *Saccharomyces unisporus*

25 °C

A fermentációk változatait a könnyebb követhetőség és jobb áttekinthetőség érdekében összefoglaltam a melléklet 15. sz. táblázatában közlöm.

3.2.7. Joghurt sejtszámának meghatározása Breed-féle módszerrel

A Breed-féle sejtszámlásos módszer igen elterjedt. Számos előnye (gyors, olcsó, egyszerű) mellett hibája, hogy a lemezöntésnél nagyobb pontosságra ennél a módszernél nem számíthatunk. Az eljárás feltétele, hogy a minta cm^3 -ként 5×10^5 -nél több sejtet tartalmazzon (KISS, 1977).

A vizsgálat menete:

- **Kenetkészítés:** A méréseknél 30 percenként 1-1- cm^3 mintát vettem. A sejt koncentráció a mérés előrehaladtával jelentősen megnő, ezért a kivett mintát a számolhatóság érdekében hígítani kellett. A megfelelően hígított mintákból 0,01 cm^3 -t cseppenttem fel a tárgylemezre rajzolt 3 db 1 cm^2 -nyi felületre. A szélesztést hajlított oltótűvel végeztem, majd a preparátumot levegőn beszárítottam és láng felett rögzítettem.

- **Zsírtalanítás:** A zsírtalanítást denaturált szesszel 1 percre végeztem. Utána desztillált vízzel leöblítettem a preparátumot.
- **Festés:** Rögzítés után a tárgylemezt 60-80 másodpercre a Löffler-féle metilénkék festőoldatba merítettem. A megfestett preparátumot óvatosan leöblítettem és levegőn megszárazítottam.

A mikroszkópos vizsgálat előtt meghatároztam a mikroszkóp faktort, ami az a szám, amellyel a látóterenkénti átlagos sejtszámot megszorozva az 1 cm³-ben lévő sejtszámot kapjuk. Ehhez ismernem kellett a látótér átmérőjét illetve a területét. A 100HI lencserendszert használva megmértem a mikroszkópi látótér átmérőjét objektív-mikrométerrel. Ha 0,01 cm³ folyadékot teríttem szét 1 cm² felületen, akkor a mikroszkóp faktor (f):

$$f = 10\,000 / r^2 \times \Pi$$

r: a mikroszkópi látótér sugara mm-ben

Az általam használt mikroszkóp látóterének sugara 0,0875 mm, tehát a mikroszkóp faktor $f = 4,1575 \times 10^5$ volt.

Sejtszámlálás:

Minden mintánál 3 négyzetben 3-3 látómezőt vizsgáltam meg immerziós objektívvel. Külön számoltam a *Streptococcus thermophilus* láncot képező kokkuszeit és a *Lactobacillus bulgaricus* pálcá alakú, láncot alkotó sejtjeit. A 9-9 adat számtani átlagának, a mikroszkópfaktornak és a hígítási faktornak az ismeretében számoltam ki a cm³-kénti sejtszámot.

Ugyanúgy a *Bifidobacterium bifidum* (kokkusz) a *Lactobacillus helveticus* (pálca) és a *Bifidobacterium bifidum* (kokkusz), *Lactobacillus acidophilus* (pálca) párosítás esetén is kivitelezhető volt a Breed féle sejtszámmeghatározás a probiotikus joghurtoknál.

Sejtszám/cm³ minta = látótér sejtszámátlaga x hígítás x $4,1575 \times 10^5$

Szaporodási görbe elemzése:

A joghurt és probiotikus kultúrák szaporodási görbéinek elemzését a Dmfit program segítségével végeztem (BARANYI & ROBERTS, 1994).

3.2.8. A kefir összes élősejtszámának meghatározása lemezöntéssel

A tej és tejtermékek élőcsíraszámának meghatározásához leggyakrabban a tenyésztéses, lemezöntéses eljárást alkalmazzák (BRANDL & SOBECK-SKAL, 1963). A savtermelőket és lúgképzőket China blue lactose agaron (MERCK, 2000) vizsgálják. A tápközeghez valamilyen savbázis indikátort adnak, leggyakrabban kínakéket. Ilyenkor a savképző tejsavbaktériumok telepei sötétkék színűek, az alkoholképző élesztők viszont csaknem színtelenek.

Fontos, hogy a tenyésztés előtt a vizsgálandó anyagból a számolhatóság, értékelhetőség biztosítására hígítási sor készüljön. A hígító folyadék peptonvíz (0,1% pepton, pH=7,0) volt. Az eljárást a szükséges hígítási fok eléréséig kell végezni, amely sok esetben a fermentált tejtermékeknél esetleg 10-100-1000 milliószoros hígítást jelent, a 10^7 ; 10^8 ; 10^9 telepkepző egység/cm³ nagyságrendek miatt.

A vizsgálat menete:

A vizsgálandó anyagból 9 tagú 10-es alapú hígítási sort készítettem. A megfelelő hígításokból a Petri csészékbe aseptikusan 1-1- cm³-t pipettáztam. Ezt követően a felolvasztott és 45-50 °C-ra visszahűtött táptalajból 15-15 cm³-t öntöttem minden Petri-csészébe. Óvatos, körkörös mozzgatással elkevertem az inokulumot a táptalajban, majd dermedés után a Petri-csészét termosztátba helyeztem. A hagyományos kefir lemezöntéseit 30 °C-on inkubáltam 72 óráig. A tenyésztés után a 30 – 300 közé eső telepszámmal rendelkező Petri-csészéket kiértékeltem.

3.2.9. A szaporodási görbe felvétele

A sejtszámlálással kapott eredmények értékelése céljából a lg szaporodási görbék felvételéhez a tejsavbaktériumok számának 10-es alapú logaritmusát ábrázoltam az idő függvényében (DEÁK et al., 2006).

3.3. Kémiai vizsgálati anyagok és módszerek

3.3.1. A minták savfokának, illetve pH értékének meghatározása

A fermentálás során keletkezett sav mennyiségéből következtethetünk a tejsavbaktériumok elszaporodására és ezáltal a termék minőségére. Tejvizsgálatoknál a Soxhlet –Henkel féle savfok

(SH^o) meghatározási módszert használják, amelynek lényege, hogy az összes lúgmegkötő anyagot megtrágyálják fenolftalein indikátor jelenlétében, 0,1 n NaOH-t használva.

Az SH^o meghatározása mellett elterjedt a pH érték mérése is. Újabban mindkét módszert alkalmazzák a fermentációk nyomonkövetésére, valamint a végtermék savasságának jelzésére.

A joghurt mintáknál az SH^o-t, a kefir mintáknál a pH értéket mértem. A pH érték meghatározásához Argus Sentron IP 67 típusú pH mérő készüléket használtam.

3.3.2. Enzimes analitikai vizsgálatok

A laktóz-, a galaktóz-, a glükóz- valamint a tejsav-tartalmat az eredetileg a Boehringer Mannheim cég által kifejlesztett enzimes módszerrel határoztam meg (BOEHRINGER MANNHEIM, 1998). A vizsgálatokhoz szükséges vegyszereket és enzimeket jelenleg a Roche cég hozza forgalomba.

A mérésekhez az Unicam cég Helios α típusú spektrofotométerét használtam.

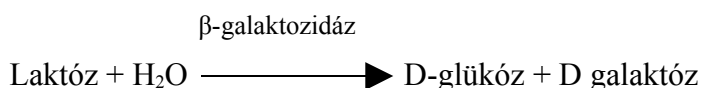
3.3.2.1. Laktóz és galaktóz tartalom meghatározása

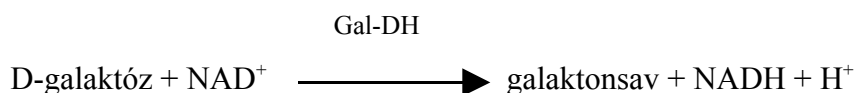
Bár alapanyagként kereskedelmi forgalomban lévő laktózhidrolizált tejet (0,1g laktóz /100cm³ tej) használtam, kis mennyiségben, nyomokban (laktóz tartalom < 0,1g/100 cm³) maradhatott a mintákban laktóz. A tejcukorérzékeny betegeknél ez a csekély mennyiség nem okoz problémát, de ennek ellenére minden esetben ellenőriztem a maradék tejcukor tartalmat.

Galaktozémiás betegeknél a diéta összeállításakor a legcsekélyebb mennyiségű maradék tejcukor tartalmat is figyelembe kell venni. Ezért a mintáknál az összes galaktóz tartalmat, tehát a maradék tejcukorban lévő galaktóz és a szabad állapotú galaktóz mennyiségét együttesen határoztam meg.

A módszer elve

A laktózt a β -galaktozidáz enzim víz jelenlétében D-glükózzá és D-galaktózzá hidrolizálja. A D-galaktózt a nikotinamid-adenin dinukleotid (NAD) galaktonsavvá oxidálja a β -galaktóz dehidrogenáz enzim (Gal-DH) segítségével:





A reakció során keletkező NADH sztöchiometrikusan arányos a laktóz, illetve a D-galaktóz mennyiségével, amely a 340 nm hullámhosszúságon mért abszorbancia érték mérésével határozható meg.

A vizsgálat menete

100 cm³-es mérőlombikba 2 g mintát analitikai mérlegen bemértem. Ezt 20 cm³ desztillált vízzel hígítottam, majd fehérjementesítés céljából hozzáadtam 5 cm³ Carrez I és 5 cm³ Carrez II oldatot. A lombik tartalmát összeráztam, majd állni hagytam 10 percig. Ezután a lombikot desztillált vízzel jelig töltöttem, majd leszűrtem. A méréshez csak tiszta, opálosságától mentes minta használható. A mérés során vakpróbát is végeztem.

A küvettába először bemértem 0,2 cm³ citrát puffert, 0,05 cm³ β-galaktozidáz szuszpenziót, majd 0,1 cm³ előkészített minta oldatot. A vak próbához minta oldatot természetesen nem adagoltam, ezt a mennyiséget bideszt vízzel helyettesítettem. Az oldatokat a küvettában összekevertem és 15 percig 20-25 °C-on inkubáltam az előírás szerint.

Ezután hozzáadtam 1 cm³ K-difoszfát puffert és 1,9 cm³ bideszt vizet. A küvetták tartalmát összekevertem, behelyezve a spektrofotométerbe 2 perc múlva leolvastam az abszorbanciákat. Ezeket az eredményeket neveztem **A₁** értéknek.

Ezután hozzáadtam 0,05 cm³ galaktóz dehidrogenáz szuszpenziót és 20 perc inkubáció után újra leolvastam az abszorbanciákat. Ezek az eredmények az **A₂** értékek.

Számítás

Meghatároztam a teszt előírása szerint az (A₂-A₁) abszorbancia különbségeket mind a vak, mind pedig a minta értékeire. Kivontam a vak abszorbancia különbségét a mintáéból:

$$\Delta A = \Delta A_{\text{minta}} - \Delta A_{\text{vak}}$$

Az így kiszámolt ΔA_{galaktóz} (a D-galaktóz minta) értékből a galaktóz koncentrációját a következő képlettel számítottam ki:

$$C = \frac{V \times MW}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A \text{ (g/l)}$$

ahol

V végtérfogat cm³

v mintatérfogat cm³

MW a mérendő komponens molsúlya (g/mol)

d fényút cm

ε a NADH abszorpciós koefficiense 340 nm = 6,3 (l x mmol⁻¹ x cm⁻¹)

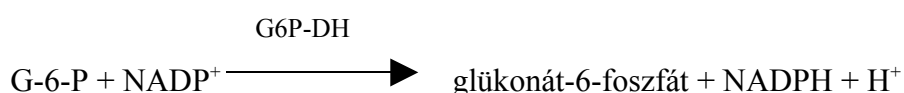
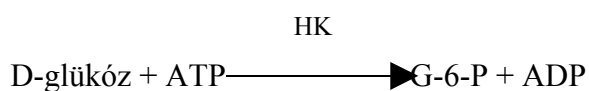
A minták hígítása esetén be kell szorozni az eredményt az F hígítási faktorról.

Amennyiben a laktóz tartalom meghatározása is szükséges volt, a mérést még egyszer elvégeztem úgy, hogy a β -galaktozidáz enzimet nem, csak a galaktóz dehidrogenáz enzimet adagoltam a mintához. Így csak az un. szabad, a tejcukorban le nem kötött galaktóz tartalmat határoztam meg, s a számolás során az először mért összes és a másodszor mért szabad galaktóz tartalom különbsége adta a tejcukor tartalmát.

3.3.2.2. A glükóz tartalom meghatározása

A módszer elve

A D-glükóz adenosin-5'-trifoszfát (ATP) valamint hexokináz (HK) jelenlétében glükóz-6-foszfáttá (G-6-P) foszforilálódik, miközben adenosin-5'-difoszfát (ADP) keletkezik. A nikotinamid – adenin dinukleotid foszfát (NADP) a glükóz-6-foszfátot glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz (G6P-DH) jelenlétében glükonát-6-foszfáttá oxidálja, miközben redukált nikotinamid-adenin dinukleotid foszfát (NADPH) keletkezik.



A NADPH mennyisége sztöchiometrikusan arányos a D-glükóz mennyiségével, amely a 340 nm hullámhosszúságon mért abszorbancia érték mérésével határozható meg

A vizsgálat menete

100 cm³-es mérőlombikba analitikai mérlegen 1 g vizsgálati mintát mértem. Hozzáadtam 60 cm³ desztillált vizet, majd 70 °C-os vízfürdőn tartottam előírás szerint, 15 percig.

Ezután a fehérje kicsapás, valamint a pH beállítás érdekében 5 cm³ Carrez I és 5 cm³ Carrez II oldatot, valamint 10 cm³ 0,1 n NaOH oldatot mértem a normállombikba. Mindegyik oldat hozzáadása után alaposan összeráztam az elegyet.

Lehűtve szobahőmérsékletre, desztillált vízzel jelig töltöttem, majd leszűrtem az elegyet. A tiszta, szűrt oldatból végeztem a meghatározást. A mérés során vakpróbát is készítettem.

A küvettába először bemértem 1 cm³ trietanol puffert, majd 0,1 cm³ előkészített minta oldatot. A vak próbához minta oldatot természetesen nem adagotam, ezt a mennyiséget bideszt vízzel helyettesítettem. Ezután hozzáadtam 1,9 cm³ bideszt vizet.

A küvetták tartalmát összekevertem, behelyeztem a spektrofotométerbe és 2 perc múlva leolvastam az abszorbanciákat. Ezeket az eredményeket neveztem **A₁** értéknek.

Ezután hozzáadtam 0,02 cm³ hexokináz és glükóz-6-foszfát enzim szuszpenziót és 20 perc inkubáció után újra leolvastam az abszorbanciákat. Ezek az eredmények az **A₂** értékek.

Számítás

Meghatároztam az (A₂-A₁) abszorbancia különbségeket mind a vak, mind pedig a minta értékeire. A vak próba abszorbancia különbségét a mintából kivontam, azaz:

$$\Delta A_{D\text{-glükóz}} = \Delta A_{\text{minta}} - \Delta A_{\text{vak}}$$

A megfelelő pontosság eléréséhez a mért abszorbancia különbségek értéke min. 0,100 kell, hogy legyen.

Az adatokból a glükóz koncentrációját a következő képlettel számítottam ki:

$$C = \frac{V \times MW}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A \text{ (g/l)}$$

ahol

V végtérfogat cm^3

v mintatérfogat cm^3

MW a mérendő komponens molsúlya (g/mol)

d fényút cm

ϵ a NADPH abszorpciós koefficiense $340 \text{ nm} = 6,3 (1 \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1})$

A minták hígítása esetén be kell szorozni az eredményt az F hígítási faktorról.

3.3.2.3. D (-) és L (+) tejsav tartalom meghatározása

A módszer elve

A D (-)-tejsavat a D(-)-tejsav dehidrogenáz enzim (D-LDH) nikotinamid-adenin dinukleotid (NAD) jelenlétében piroszőlősavvá oxidálja. Az L(+)-tejsav oxidációjához pedig L(+)-tejsav dehidrogenáz enzim (L-LDH) és NAD szükséges.

D-LDH



L-LDH



Az első és a második reakció során keletkező NADH sztöchiometrikusan arányos az L(+)- illetve a D(-)-tejsav mennyiségével, amely a 340 nm hullámhosszon mért abszorbanancia mérésével határozható meg.

A vizsgálat menete

100 cm^3 -es mérőlombikba analitikai mérlegen 2 g vizsgálati mintát mértem. Ezután a fehérje kicsapás, valamint a pH beállítás érdekében 5 cm^3 Carrez I és 5 cm^3 Carrez II oldatot, valamint 10 cm^3 0,1 n NaOH oldatot mérünk a normál lombikba. Mindegyik oldat hozzáadása után alaposan összeráztam az elegyet.

Desztillált vízzel jelig töltöttem, majd szűrtem. A tiszta, szűrt oldatból végeztem a meghatározást. A mérés során vakpróbát is végeztem.

A küvettába először bemértem 1 cm³ glycil-glycil puffer és L-glutaminsav elegyet, 0,2 cm³ NAD oldatot, 0,02 cm³ glutamát-pyruvát-transzamináz szuszpenziót, majd 0,1 cm³ előkészített minta oldatot. A vak próbához minta oldatot természetesen nem adagoltam, ezt a mennyiséget bideszt vízzel helyettesítettem. Ezután hozzáadtam 0,9 cm³ bideszt vizet.

A küvetták tartalmát összekevertem, behelyeztem a spektrofotométerbe és 2 perc múlva leolvastam az abszorbanciákat. Ezeket az eredményeket neveztem **A₁** értéknek.

Ezután hozzáadtam 0,02 cm³ D-tejsav dehidrogenáz oldatot, összekeverjük és 30 perc inkubáció után újra leolvassuk az abszorbanciákat. Ezek az eredmények az **A₂** értékek.

Végül 0,02 cm³ L-tejsav dehidrogenáz oldatát mértem az elegyhez, s 30 perc inkubáció után leolvastam az abszorbanciákat. Ezek az **A₃** értékek.

Számítás

Meghatároztam az (A₂-A₁), valamint az (A₃-A₂) abszorbancia különbségeket mind a vak, mind pedig a minta értékeire. Kivontam a vak abszorbancia különbségeket a mintákéból. Az (A₂-A₁) különbségekből a D (-)-tejsav, az (A₃-A₂) különbségekből az L (+)-tejsav mennyisége számolható a következő módon:

$$C = \frac{V \times MW}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A \text{ (g/l)}$$

ahol

V végtérfogat cm³

v mintatérfogat cm³

MW a mérendő komponens molsúlya (g/mol)

d fényút cm

ε a NADPH abszorpciós koefficiense 340 nm= 6,3 (l x mmol⁻¹ x cm⁻¹)

A minták hígítása esetén be kell szorozni az eredményt az F hígítási faktoral.

3.3.3. Aromaanyagok meghatározása gázkromatográfiával joghurt mintákból

A joghurt mintákból és az összehasonlító mintákból 20-20 cm³-t 160 cm³ térfogatú, a gőzmintavételhez szükséges szeptummal ellátott csiszolt dugóval lezárt lombikba tettünk. A lombikok belső légterébe 0,5-0,5 µl n-heptánt injektáltam a minőségi azonosításhoz szükséges standardként. A lombikokat 3 óráig 20 ± 1 °C-n tartottam, 10 percenként összerázva. A lombikok légteréből gáztömör Hamilton fecskendővel 250 µl mintát injektáltam a készülékbe.

Összehasonlító minták:

- Acetaldehid, etanol, aceton, i-propanol, n-propanol, etilacetát, i-butanol 0,2-0,2, diacetil 0,08 tf% tartalmú vizes oldat
- Acetaldehid, etanol, aceton, i-propanol, n-propanol, etilacetát, i-butanol 0,1-0,1, diacetil 0,04 tf% tartalmú vizes oldat
- Acetaldehid, etanol, aceton, i-propanol, n-propanol, etilacetát, i-butanol 0,05-0,05, diacetil 0,02 tf% tartalmú vizes oldat

Mérési paraméterek:

- Carlo Erba HRGC 530 gázkromatográf
- Oszlop: Restek Rtx-1, 30 m, ID=0,53 mm, d_f = 5 µm
- Oszlophőmérséklet: 40 °C 6 percig, majd 5 °C/perc 140 °C-ig
- Injektor: 200 °C spitless módban
- Detektor: FID, 250 °C
- Vivőgáz: N₂, p=32 kPa

A kromatogramok SP-4270 integrátorral kerültek felvételre és SP-Trans 2,0 valamint ChromPlot 5.0 programokkal dolgoztam fel és tettem Excell-kompatibilis formába.

Az összehasonlító minták segítségével megállapítottam a minta komponenseinek minőségi azonosításához szükséges relatív retenciót n-heptánra vonatkoztatva. A komponensek kromatográfiás csúcsterületeit az összehasonlító mintákban lévő koncentrációk függvényében ábrázolva megállapítottam, hogy a gőztérben mért koncentrációk lineárisan változnak az oldatbeli koncentrációkkal. Az egyes komponensek jelterület-koncentráció összefüggései természetesen eltérőek, a komponensek parciális nyomásainak megfelelően, valamint lángionizációs fajlagos jeleiktől függően.

3.4. Érzékszervi bírálat

Az érzékszervi bírálatokat joghurtoknál 10 fős, kefirreket esetén 12 fős bíráló bizottság végezte. A bírálók pontozták a készítmények megjelenését, állományát, illatát, ízét, valamint értékelték az összbenyomást is. Az eredményeket a Kramer féle rangsorolós módszerrel értékelték ki. A módszer jól alkalmazható gyártmányfejlesztésnél, mert gyors és egyszerű, így kevésbé képzett érzékszervi bírálók részvételénél is alkalmazható. Így például a laktózintoleráns betegek valamint a galaktozémias gyerekek és felnőttek is kóstolhatják a nekik kifejlesztett termékeket.

A módszer lényege, hogy az egyes bírálók pontszámai alapján rangsorolhatók a termékek, majd a rangsorszámokat összeadva eldönthető, 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 (KRAMER, (1960).

3.5. Statisztikai értékelés

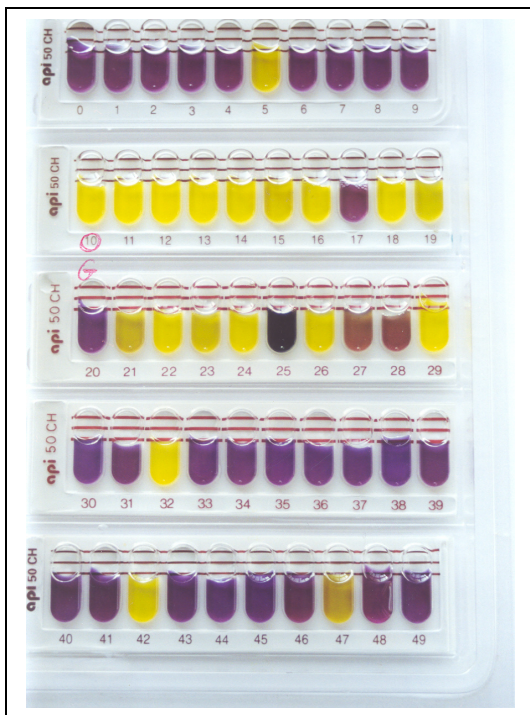
A mérési eredmények matematikai-statisztikai értékeléséhez az egytényezős variancia analízist és a kétmintás t próbát alkalmaztam. A számításokat az SPSS program 9.0 verziójával végeztem el. Szignifikánsan különbözőnek értékelték a két mérés átlagát, ha a $p < 0,001$ volt. A táblázatokban szereplő értékek: a mérési eredmények átlagai és szórásai ($\bar{x} \pm SD$). Az ábrákon a mérési eredmények átlagai és szórásai láthatók. A táblázatokban és az ábrákon a különböző betűvel jelölt értékek szignifikánsan eltérnek egymástól $p < 0,001$ valószínűségi szinten. A táblázatokban a szignifikáns különbségeket – néhány indokolt esettől eltekintve – csak a fermentációk utolsó, 48. órájában jelöltem. Az érzékszervi bírálatok esetében a $p < 0,01$ valószínűségi szinten végeztem a minták összehasonlítását.

4. Eredmények és értékelésük

4.1. A szénhidráterjesztési próbák eredményei

A *Lactobacillus acidophilus*, a *Bifidobacterium bifidum* valamint a *Lactobacillus helveticus* API 50 CHL tesztjének eredményei közül az első kettőt a 6. és 7. sz ábrán, mindhármat pedig a melléklet 16. sz táblázatában tüntettem fel. Az eredményekből látható, hogy mindhárom törzs a laktózt is és a galaktózt is képes volt energiaforrássul felhasználni.

6.sz. ábra *Bifidobacterium bifidum* (N1) szénhidrát erjesztésének eredménye



7.sz. ábra *Lactobacillus acidophilus* (N42) szénhidrát erjesztésének eredménye



A törzsek azonosságának ellenőrzéséhez a szénhidráthasznosítás mellett morfológiai és biokémiai jellemzőket is vizsgálatam. Ezek eredményeit a 12. sz. táblázatban foglaltam össze.

4.2. Az antibiotikum érzékenységi vizsgálat eredményei

Az antibiotikum érzékenységi vizsgálat eredményei a 13.sz. táblázatban láthatók. A vizsgált fajok között a *B. bifidum* a legérzékenyebb. Ennél a fajnál tapasztaltam a legnagyobb érzékenységet

az összes vizsgált antibiotikummal szemben. A másik két faj erős, illetve közepes érzékenységűnek nevezhető.

12. sz. táblázat A kiválasztott probiotikus törzsek azonosságát ellenőrző vizsgálatok összefoglalása

Törzsjelzés	<i>Lactobacillus acidophilus</i> N42, B.01078	<i>Lactobacillus helveticus</i> N43, B.01132	<i>Bifidobacterium bifidum</i> N1, B.01356
Mikroszkópos morfológia			
Alak	pálca	pálca	szabálytalan, „amfora”
Csoportosulás	1,2 illetve lánc	1,2 illetve lánc	1,2 illetve lánc
Mozgás	nincs	nincs	nincs
Gram-festés	pozitív	pozitív	pozitív
Biokémiai jellemzők			
Anyagcsere	Anaerob-aerotoleráns	Anaerob-aerotoleráns	anaerob
Erjesztési típus	tejsavas	tejsavas	Ecetsavas és tejsavas
Kataláz próba	negatív	negatív	negatív

13. sz. táblázat A probiotikus baktériumok antibiotikum érzékenysége

Antibiotikum tartalmú korong	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. helveticus</i>	<i>B. bifidum</i>
Ampicillin (20 µg)	xx	xx	xx
Carbenicillin (100 µg)	xx	xx	xx
Chloramphenicol (30 µg)	xx	xx	xx
Erytromycin (10 µg)	xx	xx	xx
Meziocillin (30 µg)	-	xx	xx
Netilmicin (30 µg)	xx	xx	xx
Oxacillin (10 µg)	x	x	xx
Pefloxacin (30 µg)	xx	-	x
Penicillin (3 IU)	-	xx	xx
Sumetrolim (25 µg)	-	-	xx
Tetracyclin (30 µg)	x	xx	xx
Vancomycin (50 µg)	xx	-	xx

xx: a gátlási zóna nagyobb, mint 20 mm

x: a gátlási zóna 20-11 mm közötti

-: a gátlási zóna kisebb, mint 11 mm

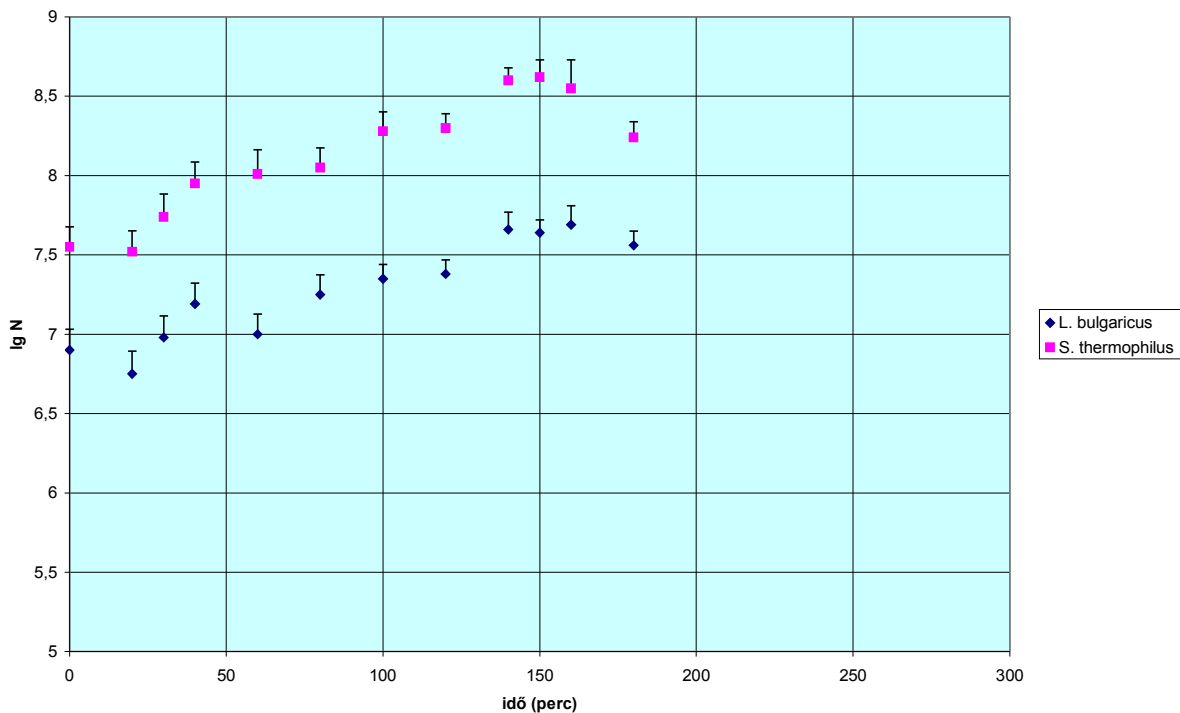
4.3. Joghurtkultúrával és probiotikus kultúrákkal végzett fermentációk eredményei

Laktózhidrolizált tej alapanyagból joghurt és probiotikus joghurt előállításának lehetőségeit vizsgáltam. Vizsgáltam a szaporodási jellemzőket, a kultúrák összes savtermelését, a laktóz és galaktóz tartalom alakulását, valamint az érzékszervi jellemzőket.

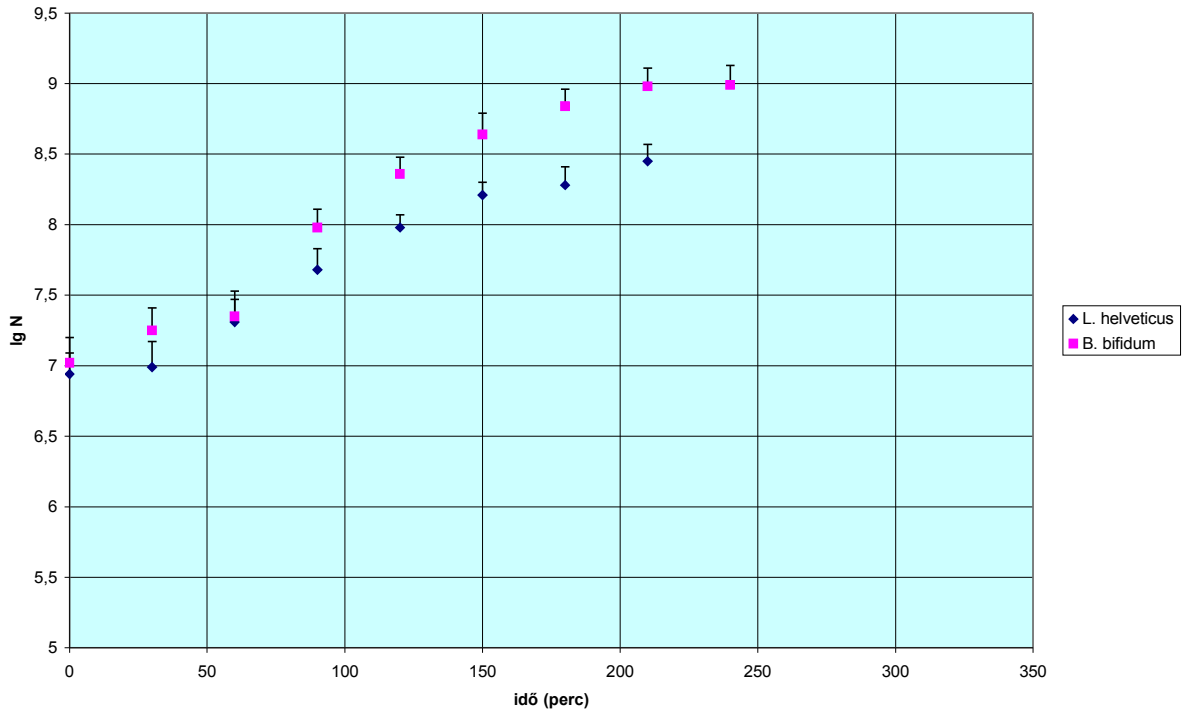
4.3.1. Szaporodási görbék

A 8.sz ábrán megfigyelhető, hogy a hagyományos joghurt kultúra a 30 perces lappangási szakasz után jól szaporodott. A 9. sz ábra a *Lactobacillus helveticus*, a 10. sz. ábra pedig a *Bifidobacterium bifidum* 30 perces lag fázis után kezdődő szaporodását jelzi.

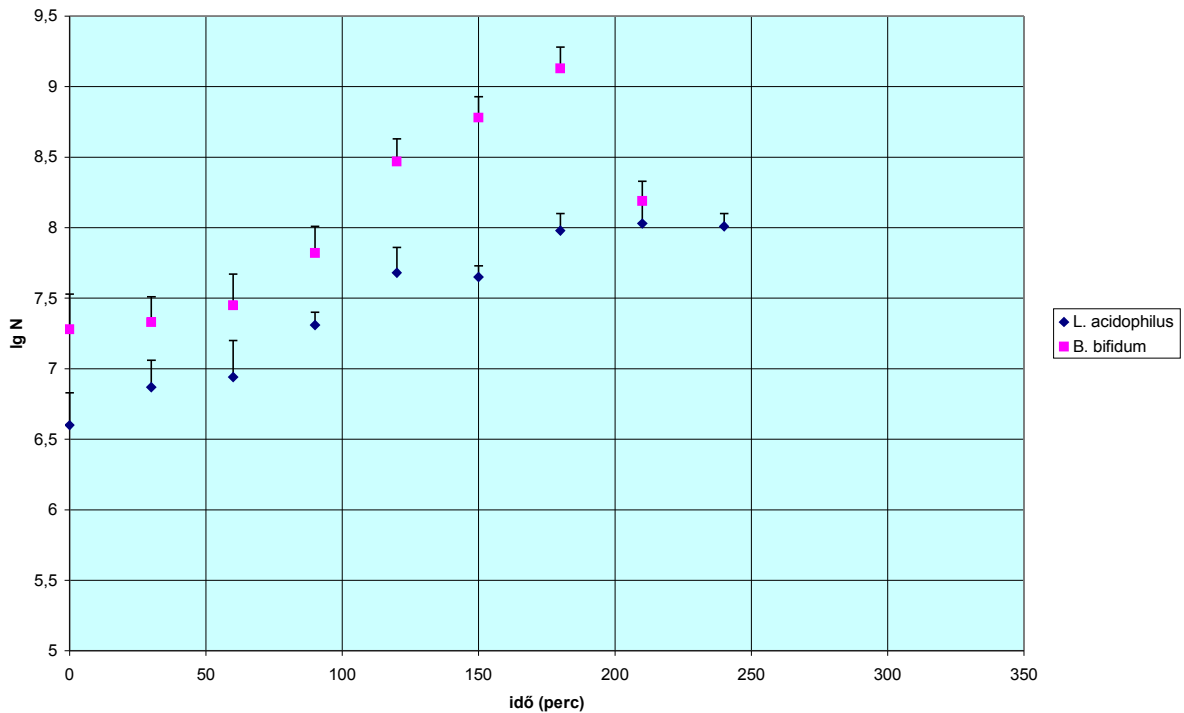
8. ábra *Streptococcus thermophilus* ($y=0,0075x+7,61;r^2=0,87$) és *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ($y=0,0049x+6,93;r^2=0,86$) szaporodása 45 °C-on laktózhidrolizált tejben (n=6)



9. ábra *Bifidobacterium bifidum* ($y=0,011x+7,03;r^2=0,98$) és *Lactobacillus helveticus* ($y=0,0077x+7,03;r^2=0,96$) szaporodása laktózhidrolizált tejben, 45 °C-on (n=6)



10. ábra *Bifidobacterium bifidum* ($y=0,0103x+7,21;r^2=0,708$) és *Lactobacillus acidophilus* ($y=0,0077x+6,75;r^2=0,98$) szaporodása laktózhidrolizált tejben 43 °C-on (n=6)



A szaporodási görbék exponenciális szakaszából kiszámítottam a szaporodási sebességi együtthatókat és ebből a generációs idők értékét. Az eredményeket a 14. sz. táblázatban foglaltam

össze. A Dmfit program pedig az adatok alapján kiszámította a görbe meredekségét és a korrelációs koefficiens, melyeket az ábra címében feltüntettem.

14. sz. táblázat A generációs idő összefoglalása

		Tejsavbaktérium vegyes tenyészet típusa		
		<i>S. thermophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>B. bifidum</i>
		+	+	+
		<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. helveticus</i>	<i>L. acidophilus</i>
Hőmérséklet °C		45	45	43
Generációs idő (min)	Kokkusz	41,25	23,89	23,18
	Pálca	54,57	28,87	39,15

A szaporodási görbék alapján megállapíthatjuk, hogy a laktózhidrolizált tej alapanyagban mind a hagyományos joghurt kultúra, mind a probiotikus mikroorganizmusok képesek voltak szaporodni, a tejipari gyakorlatban általánosan alkalmazott hőmérsékleteken.

Az ultrapasztörözött laktózhidrolizált tejben a *Bifidobacterium bifidum* és a probiotikus *Lactobacillus* fajok is kisebb generációs idővel szaporodtak, mint a tradicionális joghurt kultúra tagjai, a *Streptococcus thermophilus* és a *Lactobacillus bulgaricus*. Mivel az irodalom az ultrapasztörözött laktózhidrolizált tejben a laktulóz és a laktitol keletkezését (AMINE, 2000), valamint a probiotikus baktériumok szaporodását elősegítő hatásukat (SAARELA et al., 2003) kiemeli, ezek a növekedési faktorok elősegíthetik nemcsak a *Bifidobacterium bifidum*, hanem a probiotikus *Lactobacillus* fajok szaporodását is.

Mivel a *Lactobacillus helveticus* termofil faj, szaporodása 45 °C-on optimális, míg a *Lactobacillus acidophilus* számára a 37 °C (GOMES & MALCATA, 1999) az optimális, így 43 °C-on osztódása több időt igényelt, mint a *Lactobacillus helveticus*é, de kevesebbet, mint ami a *Lactobacillus bulgaricus* faj esetében tapasztalható.

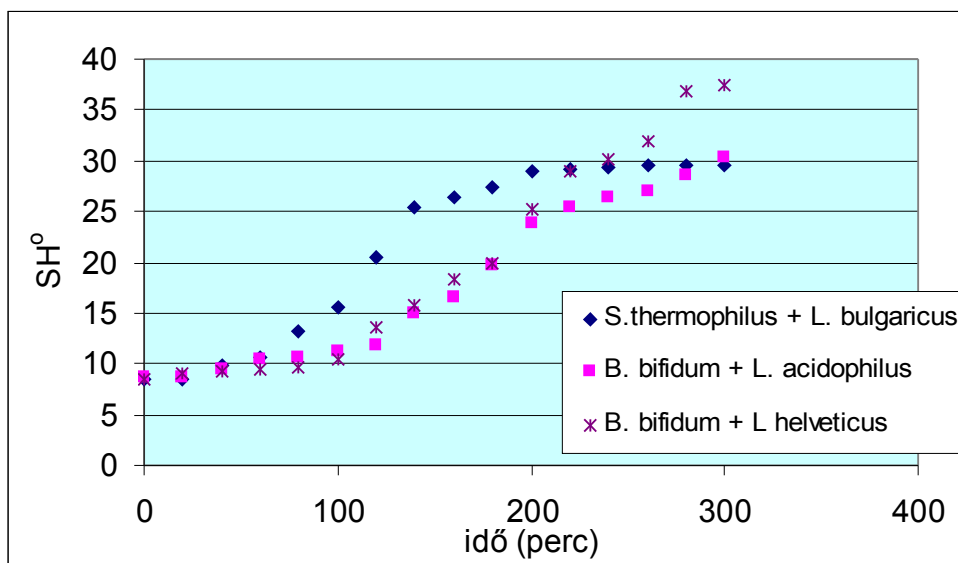
4.3.2. Savfokolási görbék

A 11. sz. ábrán a háromféle vegyes tenyészet savtermelését foglaltam össze. A laktózhidrolizált tej koagulációja a különböző kultúrák esetén különböző időpontokban kezdődött. A hagyományos joghurt kultúrával (*S. thermophilus* és *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) végzett fermentáció során a 180. percben, 27,4 SH⁰-nál, a *B. bifidum* és a *L. helveticus* vegyestenyészettel végzett fermentáció

során a 220. percben 28,9 SH^o-nál, míg a *B. bifidum* és *L. acidophilus* vegyes tenyészetével végzett fermentáció esetén a 240. percben 26,4 SH^o-nál.

Megállapítható, hogy bár a savtermelés megindulása a probiotikus kultúráknál elhúzódik, később indul meg, mint a normál joghurt kultúránál, az elért savfok a 300. percben, 5 órás fermentáció után a termofil *Lactobacillus helveticus* tartalmazó probiotikus kultúra esetén a legnagyobb, 45 °C-on, ami a vegyes tenyészet fokozott ecetsav termelésének tulajdonítható. A tenyészetek ecetsavtermelését a 15. táblázatban tüntettem fel.

11. ábra Különböző tejsavbaktérium kultúrák összes savtermelése laktózhidrolizált tejben n=6

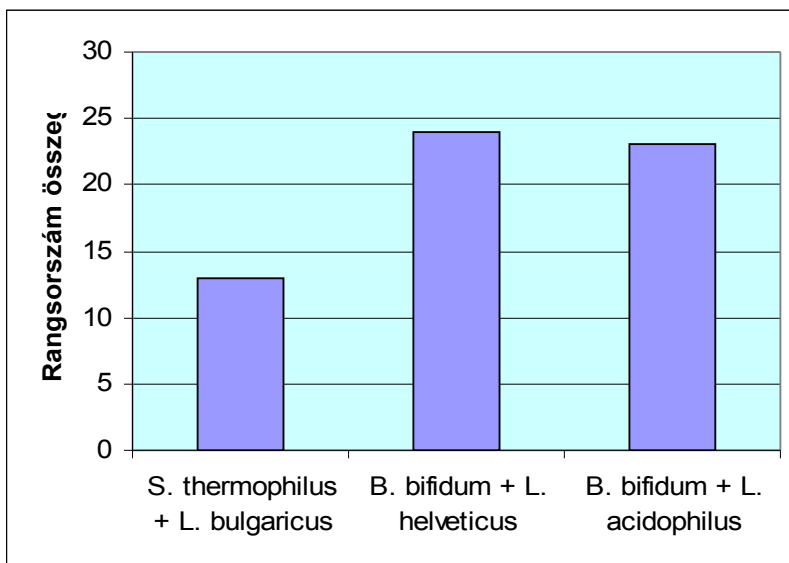


Megállapítható továbbá, hogy a 240. percben, ami a tejipari gyakorlatban a joghurt fermentáció maximális időtartama, mindhárom kultúra összes savtermelése elmarad a normál tejipari gyakorlatban szokásos értéktől a 38-42 SH^o -tól (BALATONI & KETTING, 1981). A fermentációt a tejipari gyakorlatban előírt maximális 4 óránál még egy órával tovább folytattuk, mert célunk a galaktóz tartalom csökkentése volt. Az ötödik órában a termékek érzékszervi jellemzői olyan kedvezőtlenül alakultak, hogy a fermentációt a minták lehűtésével leállítottuk.

4.3.3. Érzékszervi bírálat és az aromakomponensek elemzésének eredményei

Az érzékszervi bírálatok eredményeit a 12. ábrán és a melléklet 17. sz táblázatban tüntettem fel. A bírálók között a hagyományos joghurt kultúrával készített minta kedveltsége szignifikánsan nagyobb, míg a probiotikus kultúrákkal készítettéké kisebb volt. A kétféle probiotikus minta közül a *B. bifidum* és a *L. helveticus* vegyes tenyészetével fermentált minta íze volt a kevésbé kedvező de a két termék között gyakorlatilag nem volt különbség.

12. ábra Laktózmentes joghurtok érzékszervi bírálatának eredményei n=10; p<0,01



Az érzékszervi bírálat eredményeit gázkromatográfiás aroma meghatározással egészítettem ki. A 3.3.3. pontban ismertetett módszerrel mért főbb aromakomponenseket a 15. sz. táblázatban tüntettem fel.

Az érzékszervi bírálatok eredményei összhangban vannak az aromakomponensek gázkromatográfiás vizsgálatának eredményeivel. A hagyományos joghurt kultúrával erjesztett minták nagyobb etilalkoholtartalma és kisebb diacetil és ecetsav tartalma magyarázata lehet a szignifikánsan jobb érzékszervi pontszámnak illetve rangsorszám összegnek.

A probiotikus fajok közül a *B. bifidum* nagyobb mennyiségben képez ecetsavat (GOMEZ & MALCATA 1999), mint a normál joghurt kultúra tagjai, s a képződő ecetsav íze befolyásolja kedvezőtlenül a probiotikus termékek ízét.

15. sz. táblázat Néhány, a fermentált tejkészítményekre jellemző aromakomponens mennyisége a laktózhidrolizált tejből készült mintákban

Aromakomponens	Tejsavbaktérium vegyes tenyészet típusa		
	<i>S. thermophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i>	<i>B. bifidum</i> + <i>L. helveticus</i>	<i>B. bifidum</i> + <i>L. acidophilus</i>
Etilalkohol (ppm)	200	122	136
Acetaldehid (ppm)	250	248	848
Diacetil (ppm)	13	143	34
Ecetsav	148	1252	1166

4.3.4. A laktóz és a galaktóz tartalom alakulása

A laktóz és a galaktóz mennyiségét a fermentáció kezdetén, majd a 4. és az 5. órában mértem. Mivel az alapanyag laktózhidrolizált tej volt, a laktóztartalom mérését csak ellenőrzésképpen végeztük el. Laktóz a mintákban csak 0,1g/100 cm³-nél kisebb mennyiségben, azaz nyomokban volt mérhető. A galaktóztartalom mérési eredményeit a 16. táblázatban tüntettem fel.

A táblázat eredményeiből kitűnik, hogy a galaktóz tartalom sem a normál joghurt kultúra, sem a probiotikus tenyészetek hatására nem csökkent a kívánatos érték, azaz 500 mg/100 cm³ alá. Ez az eredmény összhangban van SZIGETI & KRÁSZ (1992) adataival, akiknek fermentációik során tejsavbaktériumokkal 5 órás fermentáció alatt szintén nem sikerült a galaktóztartalom olyan mértékű csökkenését elérni, hogy termékük beilleszthető lett volna a galaktózémiás betegek étrendjébe. A 10 órás fermentációval is csak 450 mg/100 cm³ –re sikerült a galaktóz tartalmat csökkenteni az érzékszervi tulajdonságok jelentős romlása mellett.

Ezért a továbbiakban figyelmem az élesztőgombákat is tartalmazó kefir kultúrák felé fordult, a további fermentációkat ezekkel végeztem.

16. táblázat A galaktóz-tartalom alakulása különböző tejsavbaktérium kultúrákkal végzett 5 órás fermentáció során, laktózhidrolizált tejben (n=6)

Idő (perc)	Összes galaktóz tartalom		
	mg/100cm ³		
	<i>S. thermophilus</i> + <i>L. bulgaricus</i>	<i>B. bifidum</i> + <i>L. helveticus</i>	<i>B. bifidum</i> + <i>L. acidophilus</i>
0	2504,5 ± 52,92	2504,5 ± 52,92	2504,5 ± 52,92
240	2208,3 ± 36,74	2026,2 ± 37,63	2109,3 ± 27,56
300	1625,6 ± 37,45	1458,3 ± 14,14	1545,6 ± 41,67

4.4. Kefir kultúrákkal végzett fermentációk eredményei

Kefir kultúrákkal mind laktózhidrolizált tejet, mind tej tápszer keverékeket fermentáltunk.

4.4.1. Laktózhidrolizált tej alapanyaggal, H047 kultúrával végzett fermentációk eredményei

4.4.1.1. Szaporodási görbék

A kefir kultúra élő sejtszámainak alakulását különböző hőfokokon a melléklet 18. és a 19. sz. táblázatában valamint a 13. és 14. ábrán jelöltem. Laktózhidrolizált tejben mind a mezofil tejsavbaktériumok, mind az élesztőgombák képesek voltak szaporodni, a normál tejipari gyakorlatnak megfelelő 20 °C-os, valamint a 25 °C-os és a 30 °C-os hőmérsékleten is.

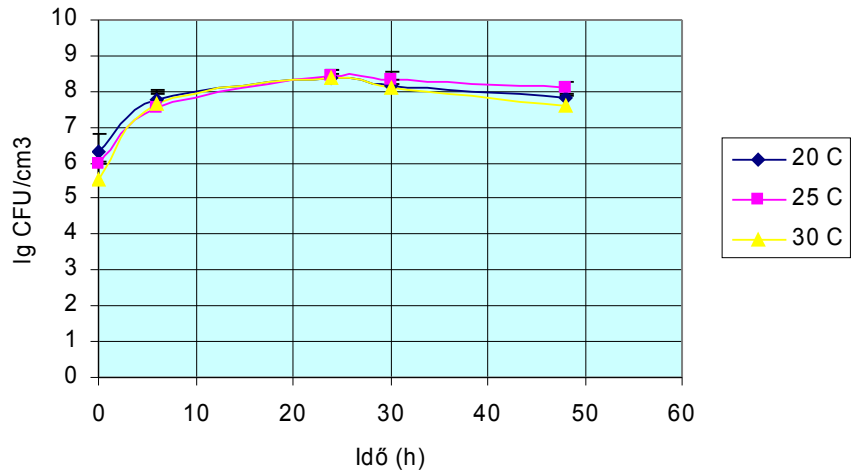
A mezofil tejsavbaktériumok számában az azonos időpontban vett mintákban a különböző hőfokokon $p < 0,001$ valószínűségi szinten szignifikáns különbség nem volt.

Az élesztők számában az azonos időpontokban vett mintákban a hőfoktól függően szignifikáns különbségeket mértem a 6., a 24., a 30. és a 48. órában is. A 24. órában a 25 °C-on fermentált mintákban az élesztők száma szignifikánsan nagyobb volt, mint a másik két mintában. A 30. és a 48. órában a 20 °C-on fermentált mintákban az élesztőszám szignifikánsan kisebb volt, mint a 25 és 30 °C-on fermentált mintákban.

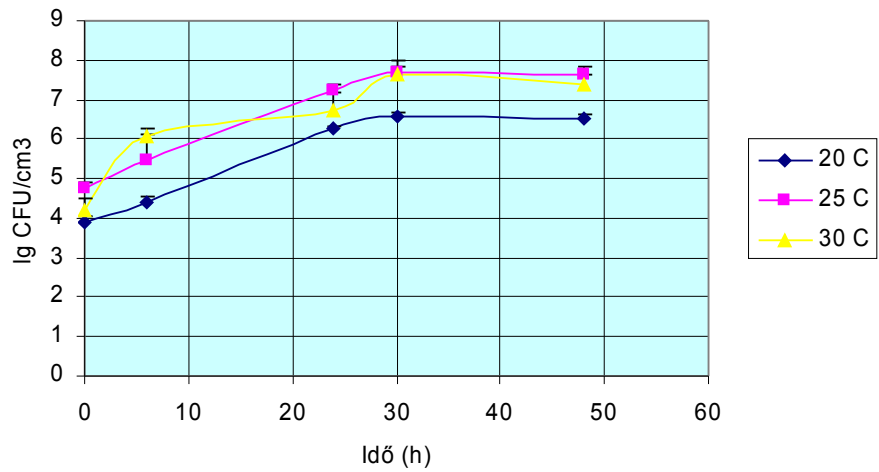
A tejsavbaktériumok szaporodását összehasonlító 13. ábrán látható, hogy a tejsavbaktériumok száma mindhárom esetben a 24. órában éri el a maximumot, ami megfelel a normál tejipari gyakorlatnak. Ezután hőfoktól függően csökken az élő tejsavbaktériumszám.

Az élesztőgombák szaporodását összehasonlító 14. ábrán megfigyelhető, hogy az élesztők élőcsíraszámja mindhárom hőfokon a 30. órában a legnagyobb.

13. ábra Mezofil tejsavbaktériumok összes élőcsíraszama háromféle hőfokon, laktózmentes tej fermentációja során n=4; p<0,001



14. ábra Összes élő élesztőszám alakulása háromféle hőfokon, laktózmentes tej fermentációja során n=4; p<0,001



4.4.1.2. A pH értékek alakulása

A fermentáció folyamatát, a savtartalom növekedését a pH értékek mérésével is nyomon követtük. A pH értékek alakulását a fermentáció során a 17. táblázatban foglaltam össze.

17. sz. táblázat A pH értékek alakulása laktózhidrolizált tej fermentációja során, háromféle hőfokon

Idő (h)	pH érték					
	n=4					
	20 °C		25 °C		30 °C	
	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD
0	6,47	±0,02	6,56	±0,01	6,49	±0,04
6	5,14	±0,06	5,85	±0,04	5,75	±0,14
24	4,22	±0,005	4,36	±0,01	4,60	±0,20
30	4,16	±0,005	4,30	±0,01	4,30	±0,04
48	3,96 ^a	±0,005	4,20 ^b	±0,01	4,27 ^b	±0,03

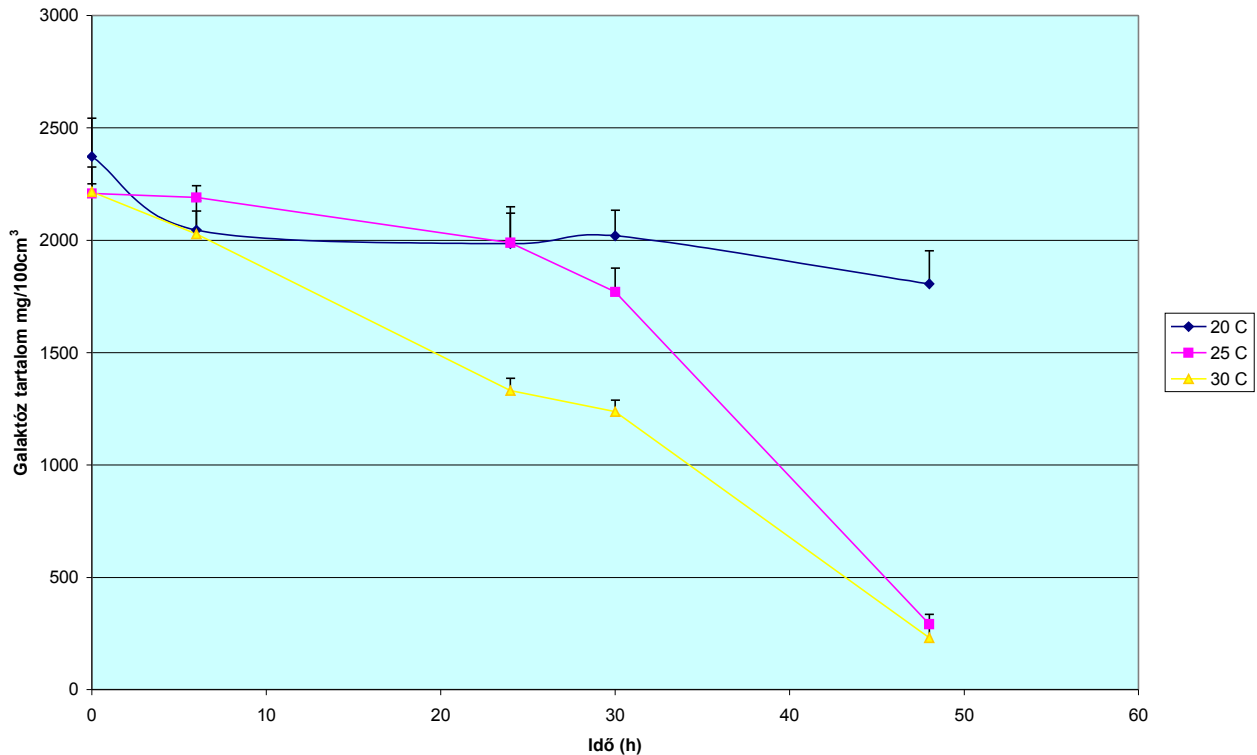
A különböző betűk ugyanabban a sorban szignifikáns különbségeket jelölnek p<0,001 szinten

A tejipari gyakorlatban a pH érték a kefir fermentáció végén 4,5-4,6 között van (BALATONI & KETTING 1981). Az én általam végzett fermentációknál, a 48. órában a pH érték ennél lényegesen kisebb volt. A 20 °C-on végzett erjesztés végső pH értéke p<0,001 szinten szignifikánsan kisebb volt, mint a másik két mintáé, amelyek p<0,001 szinten szignifikánsan nem különböztek egymástól. A minták túlsavanyodása miatt a fermentációt a 48. órában leállítottam.

4.4.1.3. A galaktóztartalmak alakulása

A galaktóz-tartalom csökkenése különböző hőfokokon a melléklet 20. táblázatában, illetve a 15.sz ábrán látható. A 30 °C-on végzett fermentáció esetén a galaktóz tartalom gyorsabban csökkent és a 24., valamint a 30. órában p<0,001 szinten szignifikánsan kisebb volt, mint a másik két hőfokon végzett fermentációnál. A 48. órában a 25 és a 30 °C-on fermentált minták között p<0,001 szinten szignifikáns különbség nem volt, míg a 20 °C-on fermentált mintákhoz képest szignifikánsan kisebb volt a galaktóz tartalmuk.

15. sz. ábra Galaktóztartalom változása laktózhidrolizált tejben háromféle hőfokon n=4; p<0,001



Ez az eredmény összhangban van azzal a mérési eredménnyel, hogy az élesztőszám a 6. órától kezdve szignifikánsan nagyobb volt a 25 és 30 °C-on fermentált mintákban. A galaktóz tartalom csökkenése tehát az élesztők segítségével szignifikánsan jobb a 30 °C-on végzett erjesztések 24. és 30. órájában, mint a 20 és 25 °C-on erjesztetteknél. A 48. óra elteltével már nincs szignifikáns különbség a 25 °C-on és a 30 °C-on tapasztalt galaktóz tartalomban. A 20 °C-on végzett erjesztés még az 1000 mg/100cm³ galaktóz értékre sem csökkent, szignifikánsan magasabb marad a 25 és 30 °C-hoz viszonyítva.

A tejipari gyakorlatban a kefirek előállításához javasolt 18-22 °C közötti hőmérsékleten (BALATONI & KETTING 1981, SZAKÁLY 2001) tehát nem sikerült a szükséges 500 mg alá csökkenteni a galaktóz tartalmat, így ez a változat nem illeszthető be a galaktozémias betegek étrendjébe.

A 25 és 30 °C-on végzett fermentációk eredményeképpen ugyan sikerült az 500 mg-os határ alá jutni, de tekintetbe véve, hogy az ajánlások szerint (ACOSTA & YANNICELLI, 1993) a betegek naponta összesen maximum 500 mg galaktózt fogyaszthatnak, ezek a készítmények nem

illeszthetők be biztonsággal minden galaktozémiás étrendjébe. A 25 és 30 fokon fermentált készítmények SCHWEITZER (1998) életkor szerinti ajánlása alapján csak a galaktokináz hiányban és az epimeráz hiányban szenvedők, valamint a klasszikus galaktozémiában szenvedő betegek közül kizárólag a felnőttek diétájának változatosabbá tételéhez alkalmazhatók, természetesen a dietetikus véleményének figyelembevételével.

A kefir kultúra segítségével 25 és 30 °C-on elért galaktóztartalmakat összevetve a saját, joghurt kultúrával végzett fermentációink eredményeivel, valamint SZIGETI & KRÁSZ (1992) eredményeivel, megállapíthatjuk, hogy ezek jelentősen kisebbek, mint amit joghurt kultúrával lehet előállítani.

4.4.1.4. Az érzékszervi bírálatok eredményei

A különböző hőfokon fermentált kefirek élvezeti értékének minősítésére illetve összehasonlításukra érzékszervi bírálatot rendeztünk. A galaktóztartalmak értékelésénél már kiderült, hogy a fermentációs időt a megfelelően alacsony galaktóztartalom elérése érdekében meg kellett hosszabbítani. A tejipari gyakorlathoz képest (BALATONI & KETTING 1981, SZAKÁLY 2001) kétszer hosszabb idő alatt a termékekben kellemetlen íz és aromaanyagok is keletkeztek. Az érzékszervi bírálatok eredményét a melléklet 21. táblázatában és a 16. ábrán foglaltam össze.

A bírálat eredményeit a KRAMER (1960) féle táblázat alapján értékeltem, ahol 12 bírálónál és 3 terméknél az értékek a következők voltak:

99%-os szignifikancia szinten ($p < 0,01$): 16-32

A Kramer féle értékelés a rangsorszám összegek szignifikáns voltát a megadott szinten a következőképpen értelmezi:

Ha a minta rangsorszám összege 16-nál kisebb, akkor 99%-os valószínűségi szinten jobb, ha 32-nél nagyobb, akkor 99%-os valószínűségi szinten rosszabb a többinél. Azok a minták, amelyeknek rangsorszám összege 16 és 32 közé esik, nem különböznek egymástól szignifikánsan 99%-os valószínűségi szinten.

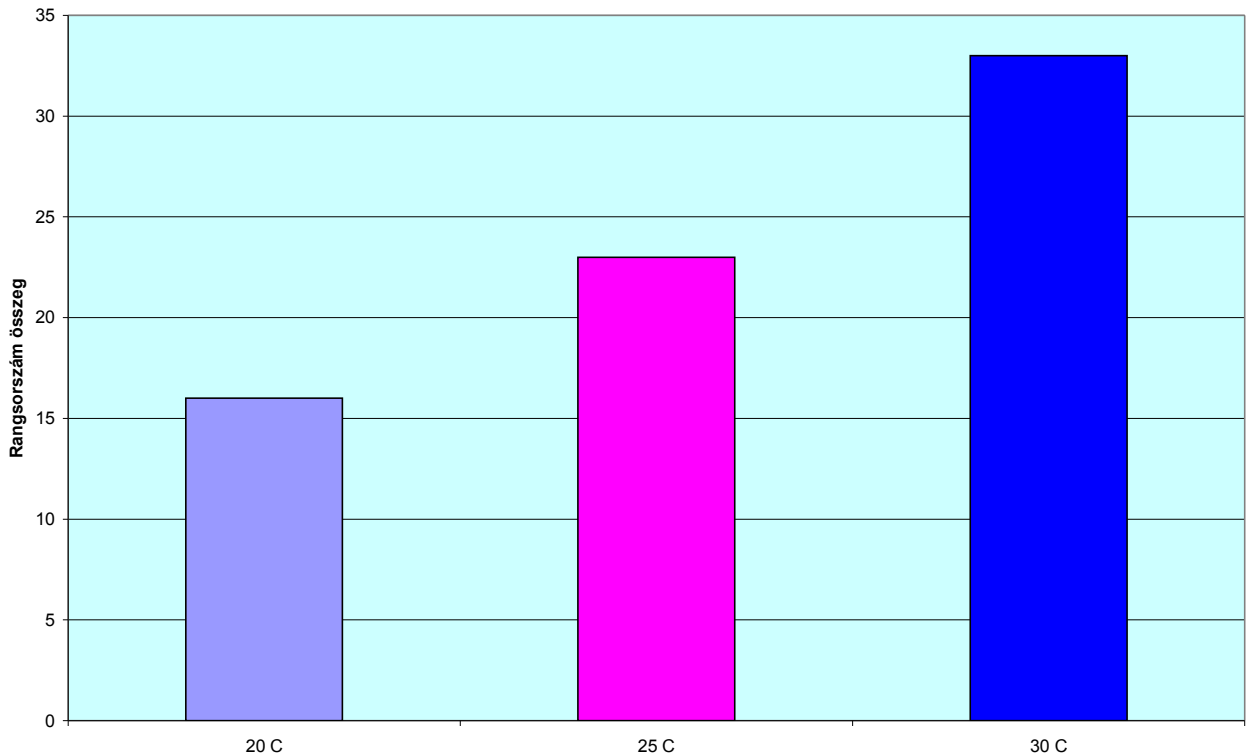
A melléklet 21. táblázata, a 16. ábra és a KRAMER féle értékhatárok alapján megállapítható, hogy az érzékszervi tulajdonságokat a fermentációs idő hosszán kívül a hőmérséklet is befolyásolta.

A táblázatból látható, hogy legkedvezőbb érzékszervi tulajdonságokkal a 20 °C-on fermentált minta rendelkezett, annak ellenére, hogy pH értéke szignifikánsan kisebb volt, mint a másik kettőé. Ezt a mintát a bírálók jobbnak minősítették, mint a másik kettőt, bár szignifikánsan nem különbözött a 25 °C-os mintától. Tekintettel arra, hogy a 20 °C-os fermentáció nem eredményez

kellően kis galaktóztartalmat, s így nem alkalmazható a diétában, ezt a mintát csak az összehasonlítás kedvéért bíraltuk.

A bírálók a 30 °C-on fermentált terméket minősítették a legrosszabbnak. Ez szignifikánsan rosszabb volt, mint a másik kettő.

16. ábra Laktózhidrolizált tejből különböző hőfokon készült kefirek érzékszervi bírálatának eredményei n=12; p<0,01

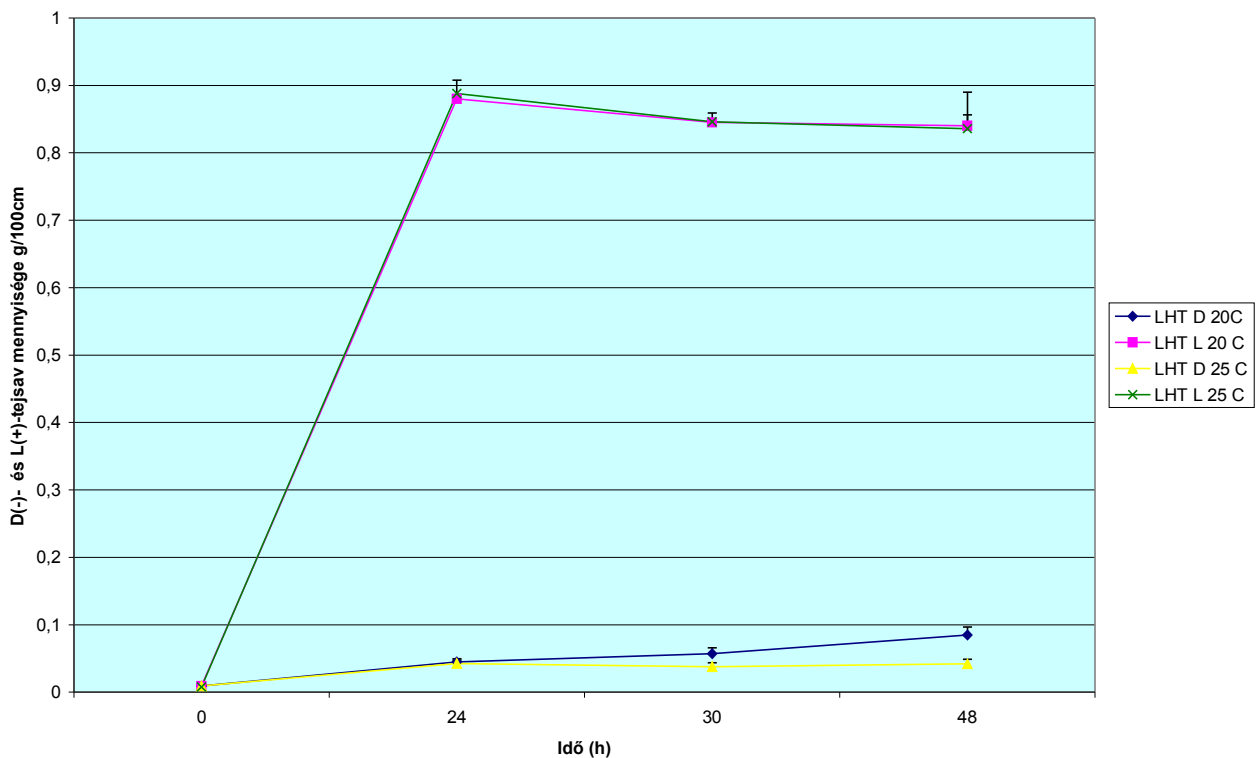


4.4.1.5. A D (-) és L (+) tejsav tartalom mennyiségének alakulása

A tejsav a savanyított tejkészítményeknek, így a kefirnek is jellemző, az íz és aroma kialakításában fontos összetevője. A D(-) és L (+)-tejsav változatok mennyiségét egy termékben több tényező befolyásolja, ezek közül az egyik a hőfok. A kétféle tejsav eltérő élettani hatása miatt fontosnak tartottam az általam fermentált mintákban a tejsav mennyiségének mérését két hőfokon, 20 és 25 °C-on. A 30 °C-on fermentált mintákban – mivel az érzékszervi bírálat ezt a változatot minősítette a legrosszabbnak - nem mértük a kétféle tejsav mennyiségét. A D(-) és L (+)-tejsav mennyiségének változását a 48 órás fermentáció során a melléklet 22. sz. táblázatában foglaltam össze.

A D (-) és L (+) tejsav aránya a mintákban megegyezik a CSAPÓ & CSAPÓÉ (2002), valamint BELITZ & GROSCH (1999) által közölt értékekkel. A D (-) és L (+) tejsav mennyiségének változása a fermentáció során pedig ugyanazt a tendenciát mutatja, mint amit FONTAN et al. (2006) méréseik során megállapítottak. A L(+)-tejsav mennyisége 24. óráig növekszik, a 24. és 48. óra között pedig mennyisége jelentős mértékben nem változik. A tejsav kétféle módosulatának változását a 17. sz ábrán követhetjük nyomon.

17. sz ábra D (-)- és L (+)-tejsav mennyisége 20 °C-on és 25 °C-on fermentált laktóz hidrolizált tejben n=2



4.4.1.6. Laktózhidrolizált tejjel végzett fermentációk eredményeinek összefoglalása

A laktózhidrolizált tejjel végzett fermentációk eredményeinek értékelése alapján megállapítható, hogy 20 °C-os fermentációval nem érhető el kellően kicsi galaktóz tartalom a termékben, ezért a betegek nem fogyaszthatják.

25 és 30 °C-on a felhasznált kefir kultúrával sikerült a galaktóztartalmat 500 mg/100 cm³-nél kisebb értékre csökkenteni, de ez a mennyiség csak a betegek egy részénél (felnőttek) illeszthető az étrendbe.

A 30 °C-on végzett fermentációk esetén olyan kedvezőtlenül alakultak az érzékszervi tulajdonságok, hogy emiatt a termék nem javasolható a diétában.

4.4.2. Tej-tápszer keverék alapanyaggal, H 047 jelű kefir kultúrával végzett fermentációk eredményeinek összefoglalása

Annak érdekében, hogy jelentősebb csökkenést érhünk el a galaktóztartalomban, a laktózhidrolizált tejhez galaktózmentes tápszereket kevertünk. A tápszerek használatának célja az volt, hogy a tej galaktóztartalmát tej- tápszer keverékek készítésével lecsökkentsük. A kisebb kezdeti galaktóz értékektől azt vártuk, hogy ezt a mennyiséget a kefir kultúra hatékonyabban fogja felhasználni, s így a termékek galaktóztartalma jelentősen kisebb lesz.

A keverékekben két rész laktózhidrolizált tej (LHT) és egy rész tápszer Pregomin (PR) illetve Nutrilon (NU) arányt alkalmaztunk. A továbbiakban az ábrákon és a táblázatokban a keverékeket 2LHT:1PR, illetve 2LHT:1NU rövidítéssel jelölöm.

A kétféle tápszer összetétele és íze különböző, így mind a mikroorganizmusok szaporodására, ezen keresztül a galaktózcsökkenés mértékére, mind a termékek érzékszervi tulajdonságaira ez az eltérés hatással lehet.

4.4.2.1. Szaporodási görbék

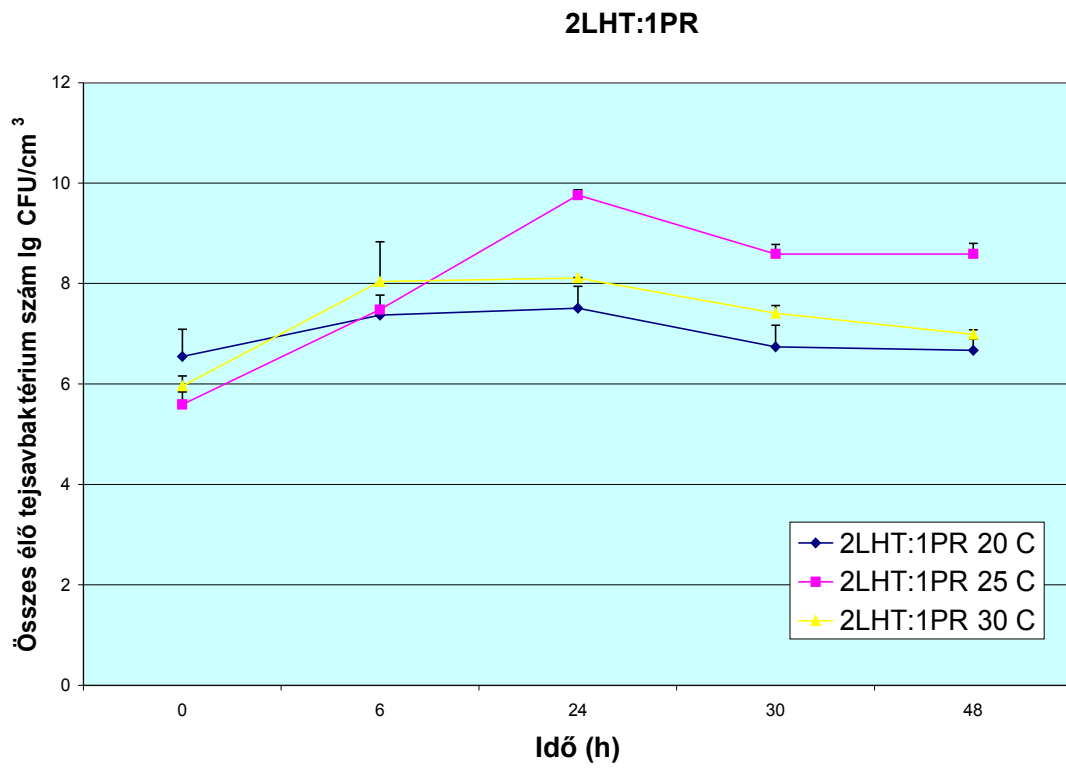
A tej-tápszer keverékekben mind a tejsavbaktériumok, mind az élesztőgombák képesek voltak szaporodni mindhárom hőfokon.

Az összes mezofil tejsavbaktérium szám alakulását a 48 órás fermentáció folyamán a melléklet 23. sz. táblázatában foglaltam össze és a 18. sz. a és b ábrán jelöltem.

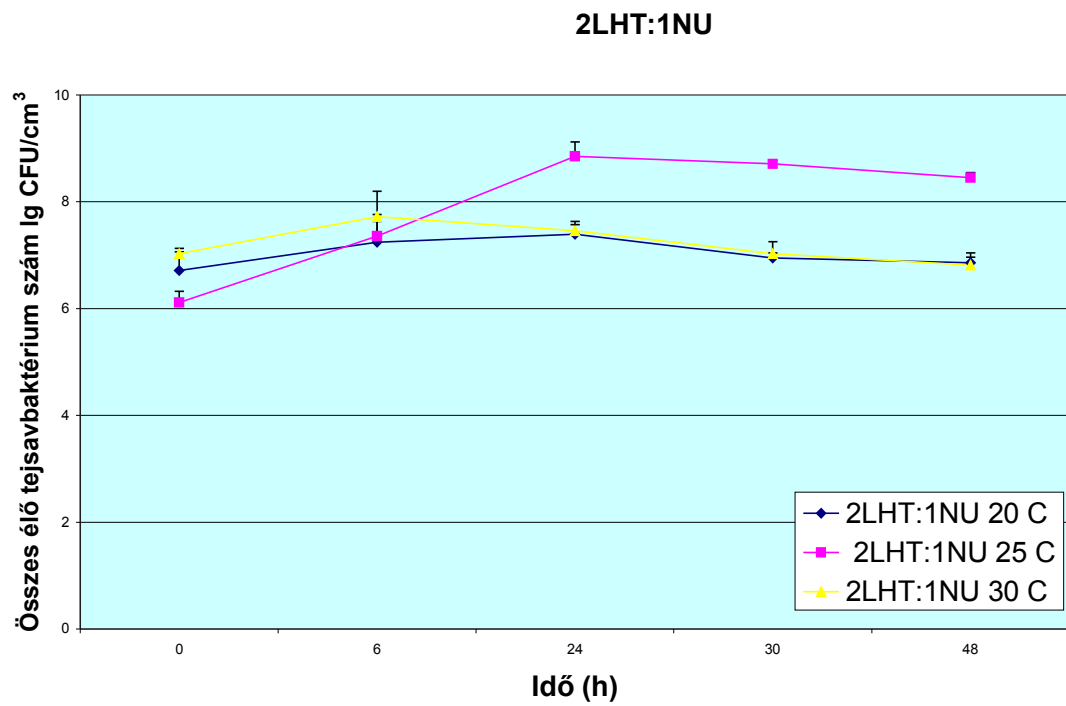
A tejsavbaktériumok száma a fermentáció 24., 30. és 48. órájában 25 °C-on $p < 0,001$ szinten mindkét keverékben szignifikánsan nagyobb volt, mint a 20 °C-os fermentációknál. A 30 °C-os fermentációknál pedig a 2LHT:1PR keverékben, a 24. órában mértem szignifikánsan nagyobb baktériumszámot.

18. sz. ábra Tejsavbaktériumok szaporodása tej-tápszer keverékekben különböző hőfokokon n=4;
p<0,001

a.



b.



Az élesztők szaporodási adatait a melléklet 24. sz. táblázatában foglaltam össze és a 19. sz. a és b ábrán ábrázoltam. A 25 és 30 °C-on végzett fermentációknál az összes élő élesztőszám a 24. órában mindkét tej tápszer keverékben $p < 0,001$ szinten szignifikánsan magasabb volt, mint a 20 °C-os fermentációknál. A 25 °C-os kezeléseknél ez a szignifikánsan nagyobb élesztőszám a fermentáció leállításáig megmaradt.

4.4.2.2. A pH értékek alakulása

A pH értékek alakulását a 48 órás fermentáció során a 18. sz. táblázatban foglaltam össze. A pH értékek a 20 °C-os fermentációknál szignifikánsan kisebbek voltak, mint a másik két hőfokon végzett fermentációnál. A statisztikai értékelést csak a 48. óra eredményeinél végeztem el.

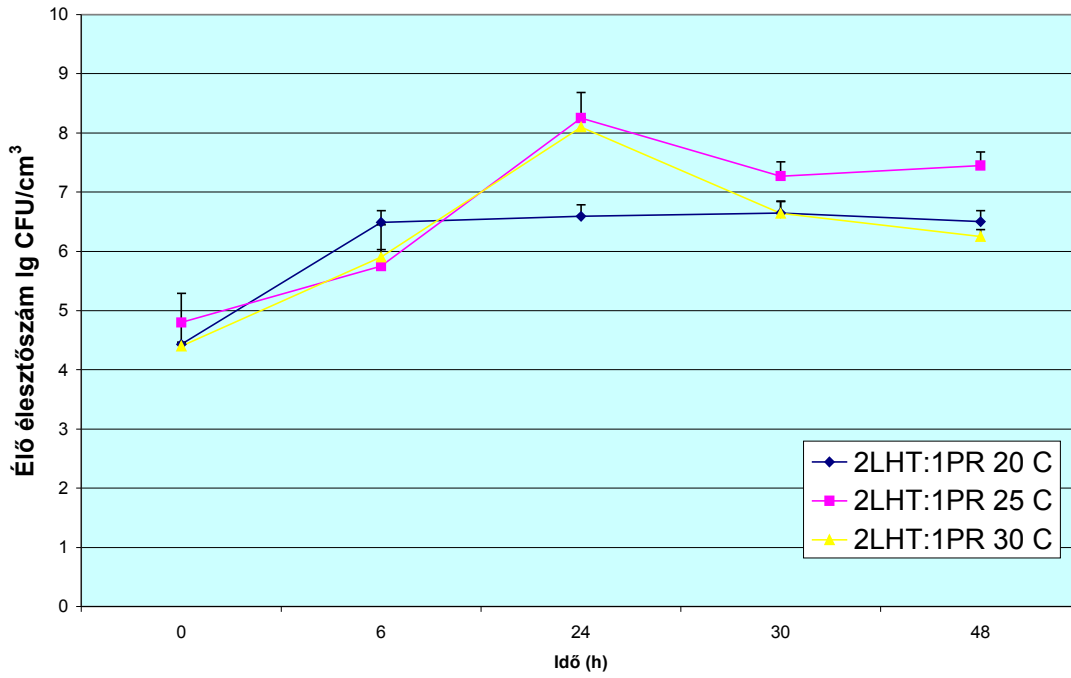
18. táblázat A pH értékek változása tej/ tápszer keverékekben különböző hőfokokon

Idő (h)	Hőmérséklet											
	20 °C				25 °C				30 °C			
	Tej/tápszer keverék típusa											
	2LHT:1PR		2LHT:1NU		2LHT:1PR		2LHT:1NU		2LHT:1PR		2LHT:1NU	
	pH n=4											
	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD
0	6,55	±0,07	6,56	±0,06	6,53	±0,01	6,52	±0,02	6,49	±0,01	6,50	±0,01
6	5,06	±0,30	5,16	±0,19	4,81	±0,03	4,79	±0,01	4,65	±0,15	4,97	±0,06
24	4,07	±0,07	4,09	±0,02	4,29	±0,01	4,27	±0,02	4,29	±0,04	4,30	±0,09
30	4,06	±0,01	4,06	±0,01	4,25	±0,01	4,17	±0,02	4,20	±0,06	4,16	±0,09
48	3,91 ^a	±0,01	3,94 ^b	±0,01	4,20 ^c	±0,02	4,16 ^d	±0,01	3,98 ^e	±0,13	4,00 ^f	±0,03

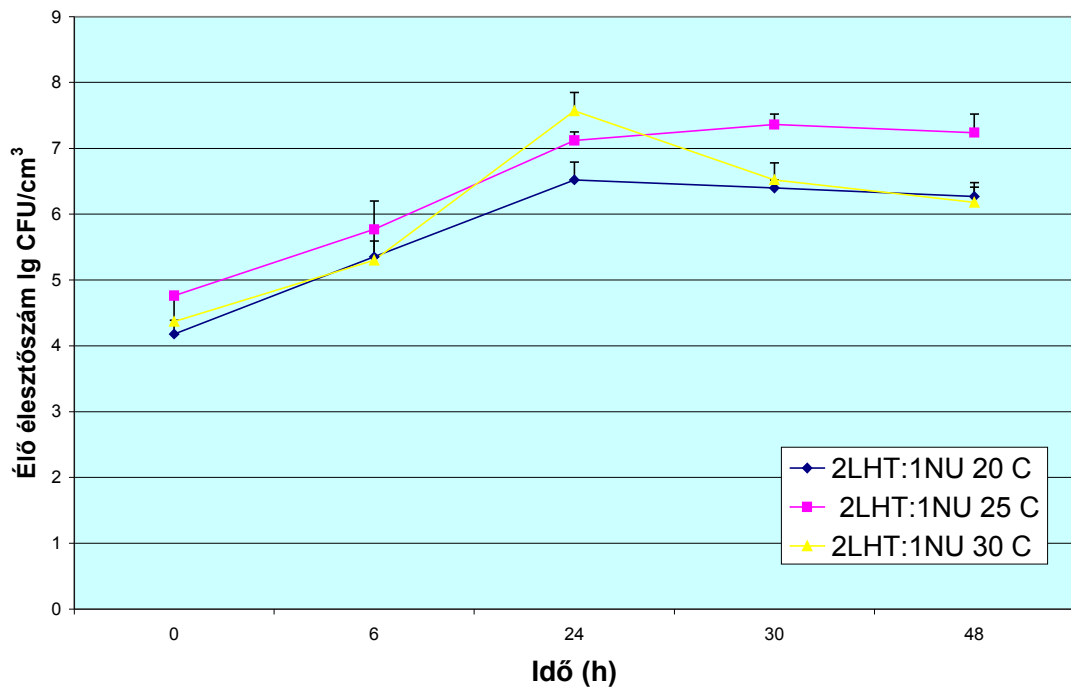
A különböző betűk ugyanabban a sorban szignifikáns különbségeket jelölnek $p < 0,001$ szinten

19. sz ábra Élesztők szaporodása tej tápszer keverékekben különböző hőfokokon n=4;p<0,001
a.

2LHT:1PR



2LHT:1NU



4.4.2.3. Galaktóztartalom alakulása különböző hőfokokon

A galaktóz tartalom csökkenését különböző hőfokokon a jobb áttekinthetőség kedvéért három a, melléklet 25. sz., a 26. sz. és a 27.sz., - az egyes hőfokoknak megfelelő - táblázatában foglaltam össze, valamint a 20. és 21. ábrán hasonlítottam egymáshoz.

A leggyorsabb ütemű galaktóztartalom csökkenést, akárcsak a laktózhidrolizált tejjel végzett fermentációk esetén, itt is 30 °C-on mértem. Ezen a hőfokon, tej tápszer keverékekben a galaktóz tartalom már a 24. órában 500 mg/100 cm³ alá csökkent.

A 48. órára a 20 °C-on fermentált 2LHT:1NU keverék kivételével mindegyik mintában jóval 500 mg/100 cm³ alá csökkent a galaktóz mennyisége. A 2LHT:1NU mintában 20 °C-on a galaktóz tartalom nem csökkent a 500 mg/100 cm³ határérték alá, a galaktóz mennyisége $p < 0,001$ szinten szignifikánsan nagyobb volt, mint az ugyanezen hőfokon fermentált 2LHT:1PR mintában.

A 48. órában 25 és 30 °C-on a kétféle tej tápszer keverék galaktóz tartalmában $p < 0,001$ szinten szignifikáns különbség nem volt.

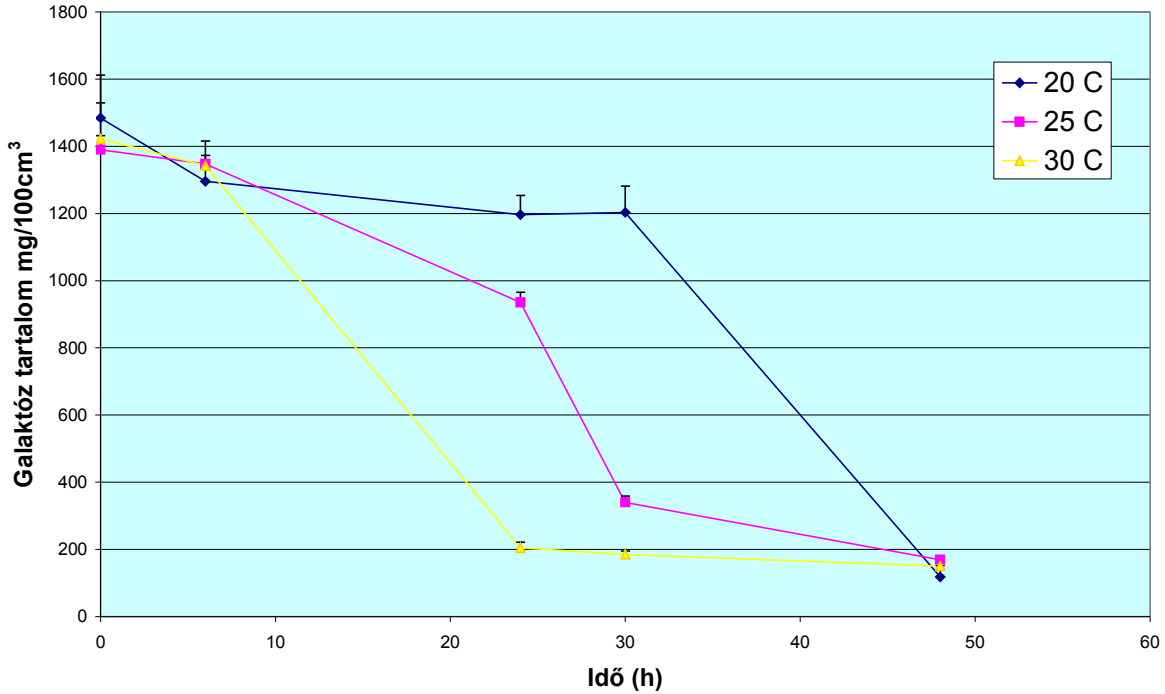
A három féle hőfokon végzett fermentációk eredményeit összevetve, a 48. órában mért galaktóztartalmak között a 2LHT:1PR keverékek között $p < 0,001$ szinten nem volt szignifikáns különbség. A 2LHT:1NU keverékek viszont $p < 0,001$ szinten szignifikánsan különböztek egymástól a háromféle hőfokon. Legalacsonyabb volt a galaktóz tartalom a 30 °C-os, majd a 25 °C-os mintákban. A 20 °C-os mintában a galaktóz tartalom nem csökkent a kívánt 500 mg/100 cm³ határérték alá.

A galaktóz tartalmak alakulását összevetve a mikroorganizmusok szaporodási adataival, megállapíthatjuk, hogy az élesztőszám a 24. órában mind a 25 °C-os, mind a 30 °C-os fermentációnál $p < 0,001$ szinten szignifikánsan nagyobb volt, mint a 20 °C-os fermentációknál, ami magyarázhatja a jelentős galaktóztartalom csökkenést.

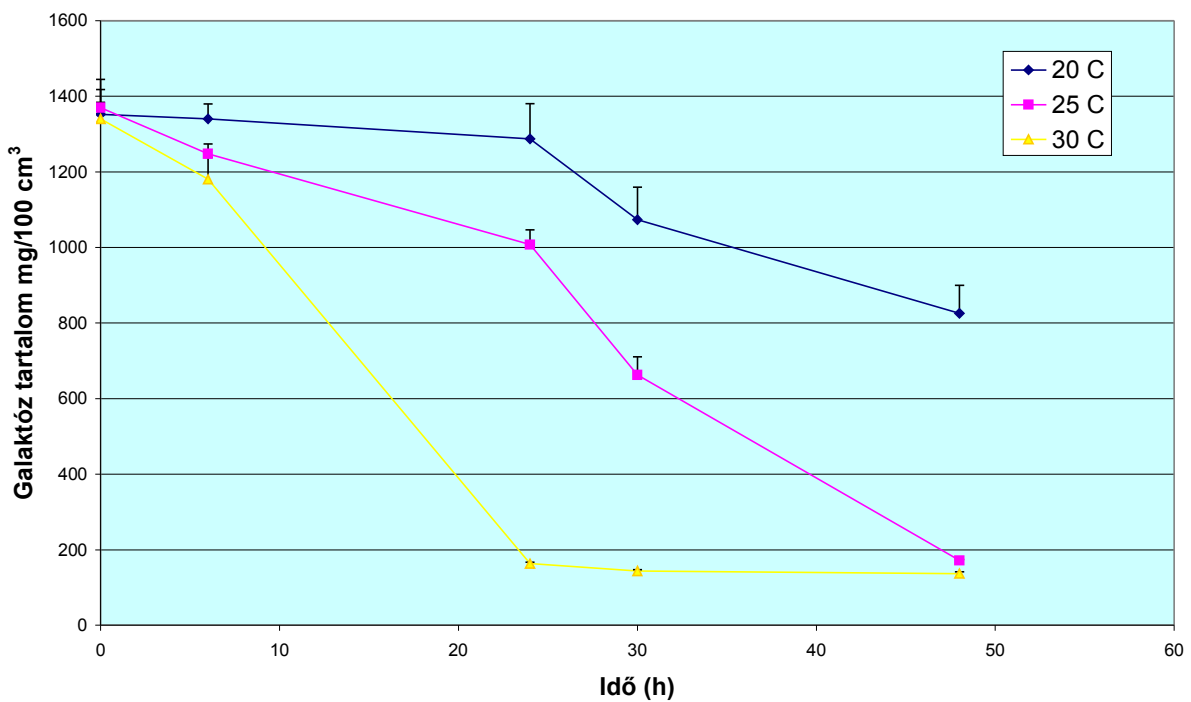
Ugyanakkor 20 °C-on, a 2LHT:1PR mintában hasonlóan jelentős galaktóz csökkenést tapasztaltam, $p < 0,001$ szinten szignifikánsan kisebb élesztőszám esetén.

A 25 és 30 °C-on végzett fermentációk eredményeképpen mindkét keverék esetében, 20 °C-on pedig a 2LHT:1PR keverékben sikerült a galaktóz tartalmat jelentősen 500 mg/100 cm³ alá csökkenteni.

20. sz. ábra Galaktóztartalom alakulásának összehasonlítása háromféle hőfokon 2LHT:1PR keverékekben n=4; p<0,001



21. sz. ábra Galaktóztartalom alakulásának összehasonlítása háromféle hőfokon 2LHT:1NU keverékekben n=4; p<0,001



Az ajánlások szerint (ACOSTA & YANNICELLI, 1993) a betegek naponta összesen fogyaszthatnak maximum 500 mg galaktózt, így ezek a készítmények - mindenkor orvos és dietetikus által meghatározott mennyiségben - elvileg beilleszthetők a galaktozémiás betegek étrendjébe. Így, SCHWEITZER (1998) életkor szerinti ajánlása alapján hozzájárulhatnak nemcsak a felnőtt betegek, hanem a fiatalabbak diétájának változatosabbá tételéhez is.

4.4.2.4. Érzékszervi bírálat eredményei

A különböző hőfokon tej-tápszer keverékekből fermentált kefirek élvezeti értékét is érzékszervi bírálattal hasonlítottuk össze.

A galaktóztartalmak értékelésénél már kiderült, hogy a fermentációs időt a tej-tápszer keverékekből készült minták esetében is meg kellett hosszabbítani a megfelelően alacsony galaktóz tartalom elérése érdekében. A tejipari gyakorlathoz képest (BALATONI & KETTING 1981, SZAKÁLY 2001) hosszabb idő alatt a termékekben ebben az esetben is keletkeztek a friss, 24 órás kefiről idegen íz és aromaanyagok. Ehhez járult még a tápszerek mellékíze, ami befolyásolja a termékek élvezeti értékét. Az érzékszervi bírálatok eredményét a melléklet 28. táblázatában foglaltam össze és a 22. ábrán jelöltem.

A rangsorolós bírálat eredményeit itt is a KRAMER (1960) féle táblázat alapján értékeltem, ahol 12 bírálónál és 6 terméknél az értékek a következők voltak:

99%-os szignifikancia szinten ($p < 0,01$): 25-59

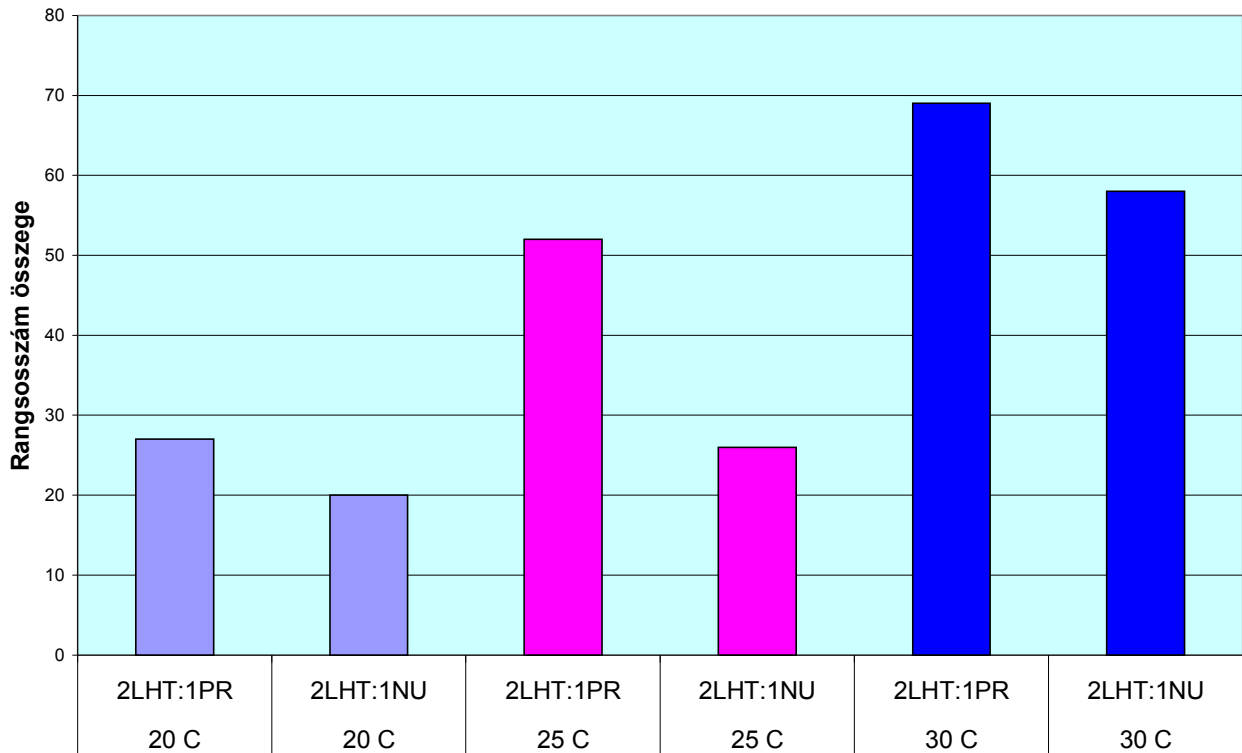
A Kramer féle értékelés a rangsorszám összegek szignifikáns voltát a megadott szinten a következőképpen értelmezi:

Ha a minta rangsorszám összege 25-nél kisebb, akkor 99%-os szinten jobb, ha 59-nél nagyobb, akkor 99%-os valószínűségi szinten rosszabb a többinél. Azok a minták, amelyeknek rangsorszám összege 25 és 59 közé esik, nem különböznek egymástól szignifikánsan 99%-os valószínűségi szinten.

A melléklet 28. táblázata és a KRAMER féle értékhatárok alapján megállapítható, hogy az érzékszervi tulajdonságokat a fermentációs idő hosszán kívül a hőmérséklet, valamint a tápszer fajtája is befolyásolta.

A táblázatban és a 22. ábrán látható, hogy legkedvezőbb érzékszervi tulajdonságokkal a 20 °C-on, fermentált, Nutrilon tápszer felhasználásával készített minta rendelkezett, amely szignifikánsan jobb volt, mint a másik öt. A bírálók a 30 °C-on fermentált termékeket minősítették a legrosszabbnak. Ezek közül a Pergomin tápszer felhasználásával készített minta szignifikánsan rosszabb volt, mint a többi.

22. ábra Tej-tápszer keverékekből különböző hőmérsékleten készült kefirek érzékszervi bírálatának eredményei n=12; p<0,01



4.4.2.5. D (-)- és L (+)-tejsav mennyiségének alakulása tej tápszer keverékekben

A D(-) és L (+)-tejsav változatok mennyiségének mérését a tej tápszer keverékekben is fontosnak tartottam, hiszen a fermentáció alapanyaga itt nem kizárólag tej volt, hanem tápszer is. Ez a tény pedig befolyásolhatja a keletkező tejsav mennyiségét, valamint a D(-) és L (+)-tejsav arányát is.

A 30 °C-on fermentált mintákban – mivel az érzékszervi bírálat ezeket a változatokat minősítette a legrosszabbnak - nem mértük a kétféle tejsav mennyiségét.

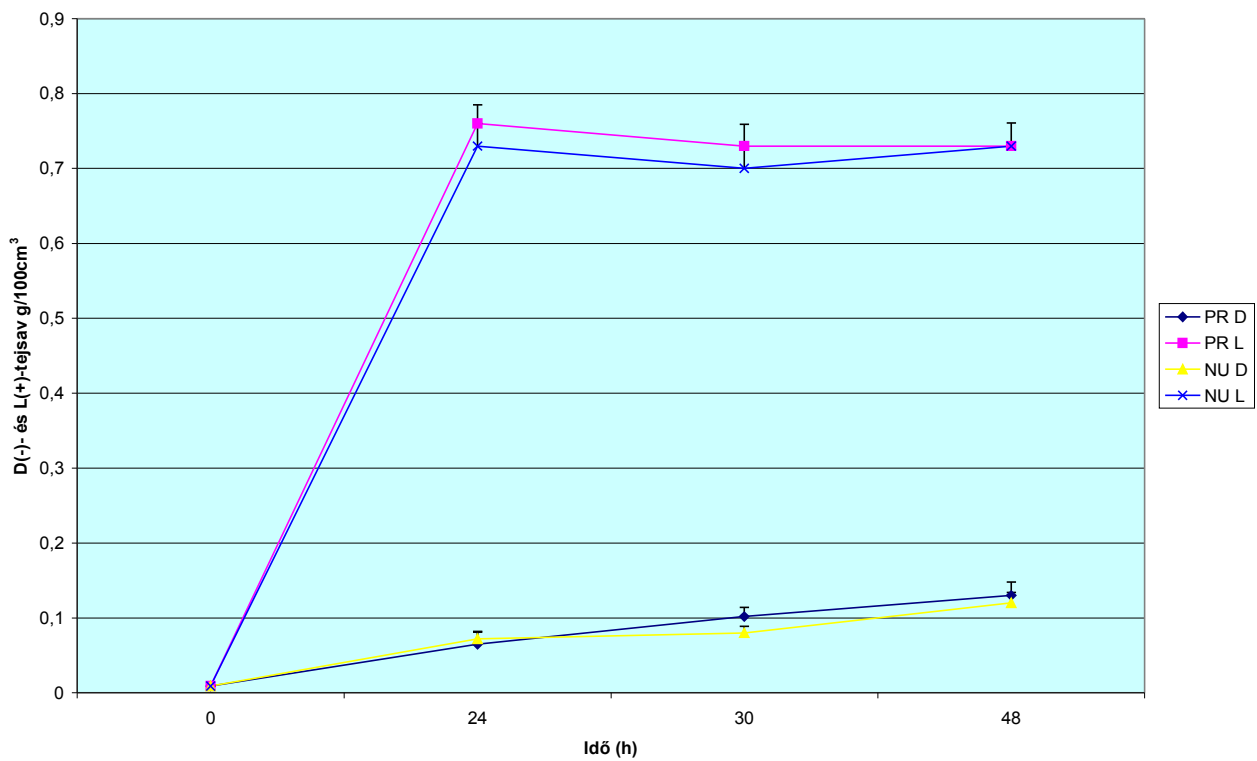
A D(-) és L (+)-tejsav mennyiségének változását a 48 órás fermentáció során a melléklet 29. sz. és a 30. sz. táblázatában foglaltam össze. A tejsav kétféle módosulatának változásait a 23. és a 24.sz. ábrán is nyomon követhetjük. A D (-) és L (+) tejsav aránya a keverékekben megegyezik a CSAPÓ & CSAPÓNÉ (2002), valamint BELITZ & GROSCHE (1999) által közölt értékekkel, amelyek tejre vonatkoznak. A D (-) és L (+) tejsav mennyiségének változása a fermentáció során pedig ugyanazt a tendenciát mutatja, mint amit FONTAN és munkatársai (2006) méréseik során

megállapítottak. A L(+)-tejsav mennyisége a 24. óráig növekszik, a 24. és 48. óra között pedig mennyisége jelentős mértékben nem változik, esetleg kis mértékben csökken.

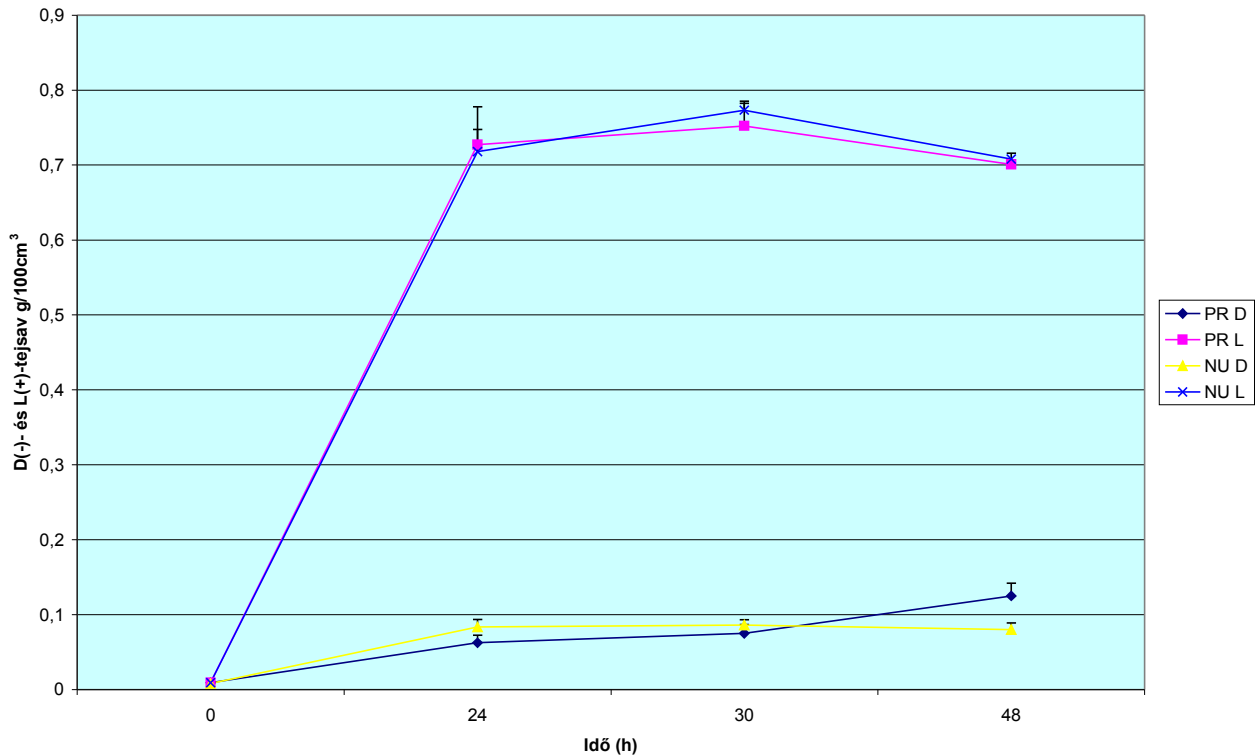
Az ábrákon megfigyelhető a D (-)-tejsav kismértékű növekedése a 24-től a 48. óráig, valamint ezzel párhuzamosan az L (+)-tejsav kismértékű csökkenése.

A jelenséget többen is leírták, illetve méréseikkel igazolták. Az L(+)-tejsav csökkenésének, illetve a D(-)-tejsav növekedésének okaként azt jelölték meg, hogy számos *Lactobacillus* faj képes D(-)-tejsavat előállítani közvetlenül glükózból és fruktózból, valamint L(+)-tejsavból is. (KANDLER & WEISS, 1986; THOMAS & CROW, 1983). Ezenkívül leírták acetát képződését L(+)-tejsavból (LIU, 2003), valamint az L(+)-tejsav teljes oxidációját széndioxiddá és vízzé, élesztők tevékenysége következtében (FOX et al. 1990).

23. sz. ábra D (-)- és L (+)-tejsav mennyiségének alakulása tej-tápszer keverékekben 20 °C-on végzett fermentáció esetén n=2



24. sz. ábra D (-)- és L (+)-tejsav mennyiségének alakulása tej-tápszer keverékekben 25 °C-on végzett fermentáció esetén



4.4.3. KC1 kefir kultúrával végzett fermentációk eredményei és azok hasonlítása a H 047 kultúrával végzett fermentációk eredményeihez

Az eddigi eredményekből kitűnik, hogy a tej-tápszer keverékek – kivéve a 20 °C-os 2LHT:1NU keveréket - fermentációjával minden hőfokon, laktózhidrolizált tej fermentációjával 25 °C és 30 °C-on sikerült a galaktóztartalmat 500 mg/100 cm³ érték alá csökkenteni. A hosszú fermentációs idő, illetve a kefir fermentációjához szükséges hőmérsékletnél magasabb hőfok miatt azonban kellemetlen íz és aromaanyagok is keletkeztek, amelyek rontják a termékek élvezeti értékét. Amennyiben rövidebb idő alatt lehetne elérni ugyanilyen mértékű galaktóz tartalom csökkenést, 25 °C-on, a fermentációs idő lerövidülne, s a termékek íze kedvezőbb lenne. Ezért a fermentációkat más összetételű kefir kultúrával is elvégeztem, amelyben a jó galaktóz bontó képességű *S. unisporus* (SEILER 2003) élesztőgomba is a vegyes tenyészet tagja.

A galaktóz mellett a glükóz tartalom változását is mértem, hogy információt szerezzek arról, milyen ütemben bontják az egyik, illetve a másik egyszerű cukrot a mikroorganizmusok.

A fermentációkat ezzel a kultúrával csak 25 °C-on végeztem el, mert 20 °C-on nem minden változatban volt a galaktóz tartalom csökkenése megfelelő, 30 °C-on pedig a végtermékek nem voltak megfelelő ízűek, amint arra az érzékszervi bírálatok rámutattak.

4.4.3.1. A kétféle kefir kultúrával előállított termékek glükóz- és galaktóztartalmának összehasonlítása laktózhidrolizált tejben

A glükóztartalom változását a kétféle kefir kultúra hatására a melléklet 31. sz., a galaktózt pedig a 32. sz táblázatában foglaltam össze.

Az adatokból megállapítható, hogy a két kefir kultúra a glükózt ugyanolyan ütemben fogyasztotta, szignifikáns különbség nem volt megállapítható egyik időpontban sem a glükóz tartalmak között.

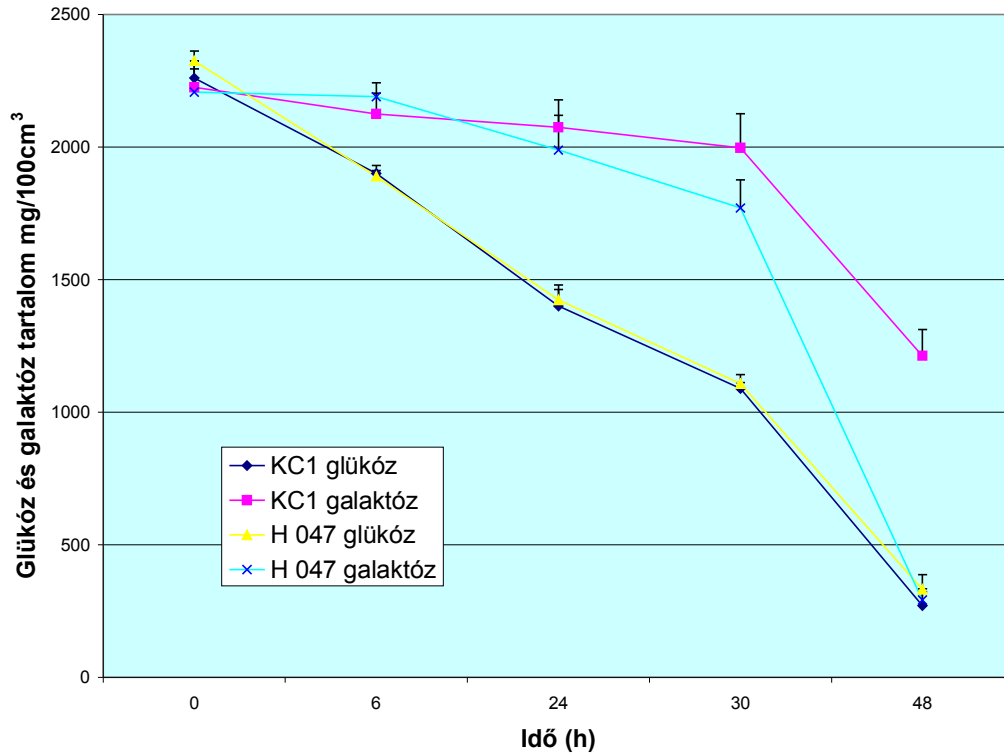
A galaktóz fermentációja a 30. óráig a két kultúra által azonos ütemben történt, a 48 órában viszont már $p < 0,001$ szinten szignifikáns különbséget tapasztaltam a tenyészetek között. A H 047 jelű kultúra szignifikánsan kisebb galaktóz tartalmat eredményezett, mint a *S. unisporus* tartalmú KC1 jelű kultúra.

A két monoszacharid mennyiségének változását a kétféle kefir kultúra függvényében a 25. ábrán hasonlítottam össze. Az ábráról leolvasható, hogy a glükózt mindkét kultúra nagyobb ütemben kezdi fermentálni, mint a galaktózt, majd az energiaforrásul szolgáló glükóz mennyiségének csökkenésekor a galaktózt is nagyobb mértékben kezdik el erjeszteni.

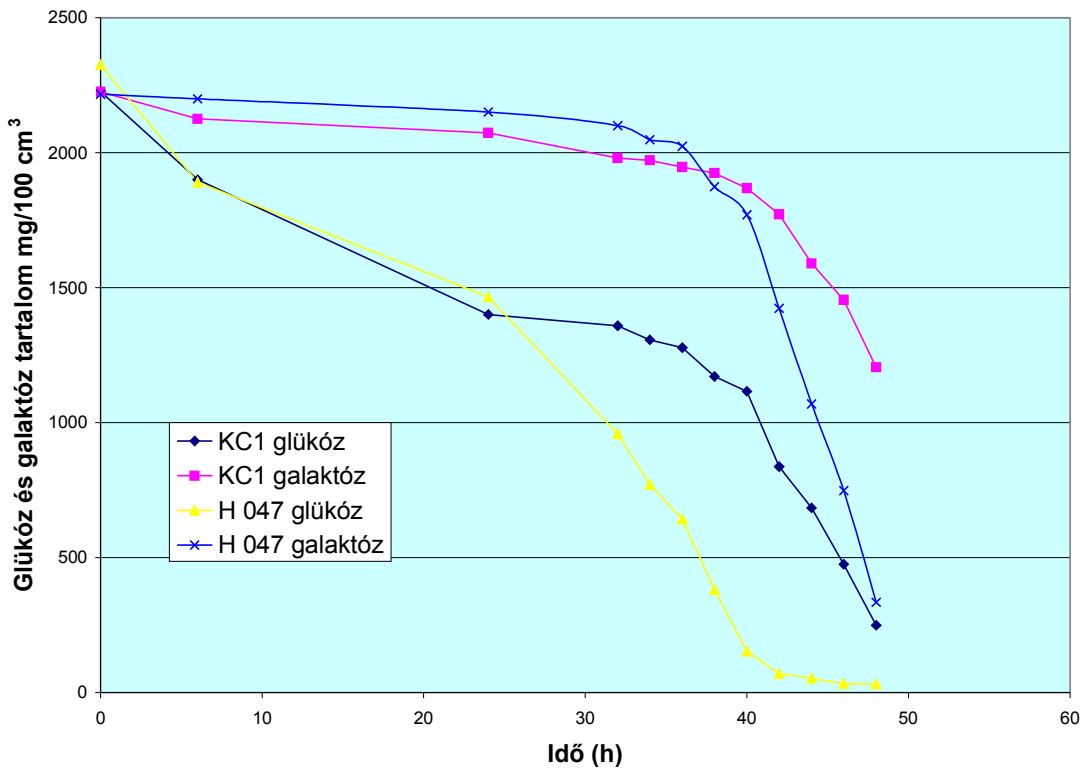
Az eddigi eredményekből az is kitűnik, hogy a jelentős mértékű galaktóztartalom csökkenés a 30. és a 48. óra között következik be, ezért ebben az időszakban sűrítettem a mintavételt, 2 óránként vettem mintát és határoztam meg a glükóz és galaktóz tartalmat. Ezt a mérést két párhuzamos mintával végeztem el. Az eredményeket a melléklet 33. táblázatában és a 26. ábrán foglaltam össze. Mivel ezt a mérést csak két párhuzamos mintával végeztem el, ezért statisztikai elemzésnek nem vettem alá az adatokat.

Az eredmények SEILER (2003) megállapításaival összhangban ebben az esetben is azt jelzik, hogy a kultúrák először a glükózt fogyasztják nagyobb ütemben, majd ennek csökkenése után a galaktózt. Ennek a mérésnek a során is a H 047 jelű kultúra eredményezett kisebb galaktóz tartalmat.

25. sz. ábra Glükóz- és galaktóztartalom változása laktózhidrolizált tejben 25 °C-on, kétféle kefir kultúrával végzett fermentáció során n=4; p<0,001



26. sz. ábra Glükóz és galaktóz tartalom változása laktózhidrolizált tejben, 25 °C-on, H 047 és KC1 kefir kultúrákkal 2 óránkénti mintavétellel n=2



4.4.3.2. A kétféle kefir kultúrával végzett fermentációk glükóz és galaktóz tartalmainak összehasonlítása tej-tápszer keverékekben

A glükóz tartalmak változását tej-tápszer keverékekben a kétféle kefir kultúra hatására a melléklet 34. sz., a galaktóz tartalmak változását pedig a 35. sz táblázatában foglaltam össze.

Az adatokból megállapítható, hogy a két kefir kultúra a glükózt kezdetben ugyanolyan ütemben metabolizálta. A 24., a 30. és a 48. órában azonban szignifikáns különbség mutatkozik $p < 0,001$ szinten a kétféle keverék között glükóz tartalomban. A 2LHT:1PR keverékekben szignifikánsan kisebbek a glükóz tartalmak, mint a 2LHT:1NU keverékekben.

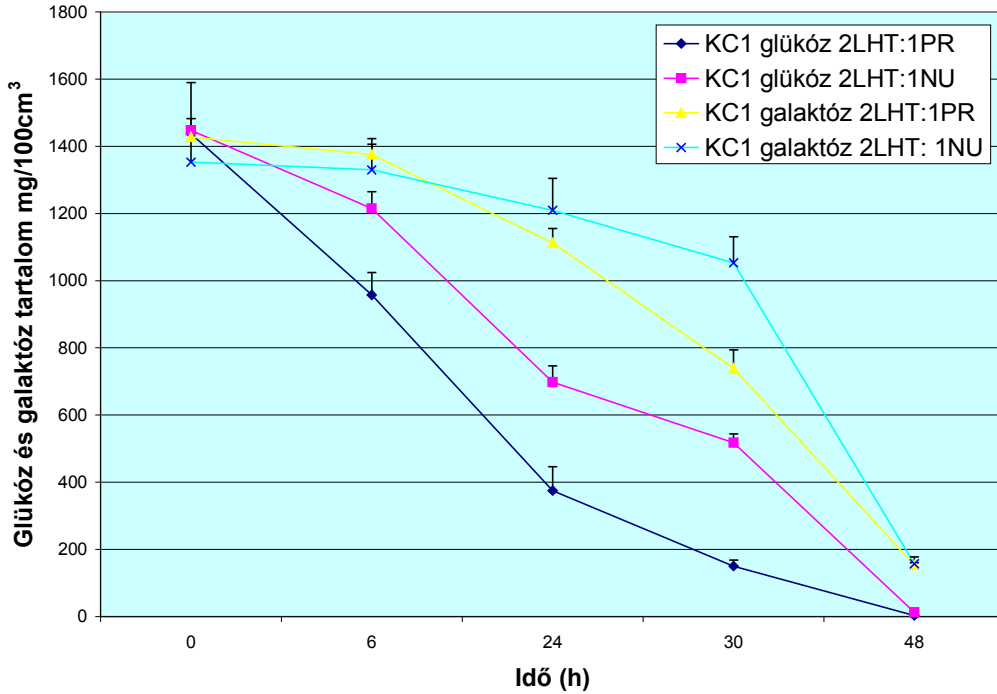
A galaktóz fermentációja a 24. óráig a két kultúra által azonos ütemben történt, a 30. órában viszont már $p < 0,001$ szinten szignifikáns különbséget tapasztaltam a kétféle tenyészet között, s azon belül a kétféle keverék között. A H 047 jelű kultúra szignifikánsan kisebb galaktóz tartalmat eredményezett mindkét keverékben, mint a *S. unisporus* tartalmú KC1 jelű kultúra. A keverékek között a 2LHT:1PR jelűben volt $p < 0,001$ szinten szignifikánsan kisebb a galaktóz tartalom. A 48. órában $p < 0,001$ szinten szignifikáns különbséget nem tapasztaltam sem a keverékek, sem a kultúrák között a galaktóz mennyiségében.

A két monoszacharid mennyiségének változását a tej-tápszer keverékekben KC1 kefir kultúrával fermentálva a 27. ábrán hasonlítottam össze. Az ábráról leolvasható, hogy a glükózt mindkét kultúra nagyobb ütemben kezdi fermentálni, mint a galaktózt, majd az energiaforrásul szolgáló glükóz mennyiségének csökkenésekor a galaktózt is nagyobb mértékben kezdik fogyasztani a KC1 kefir kultúra fajtái.

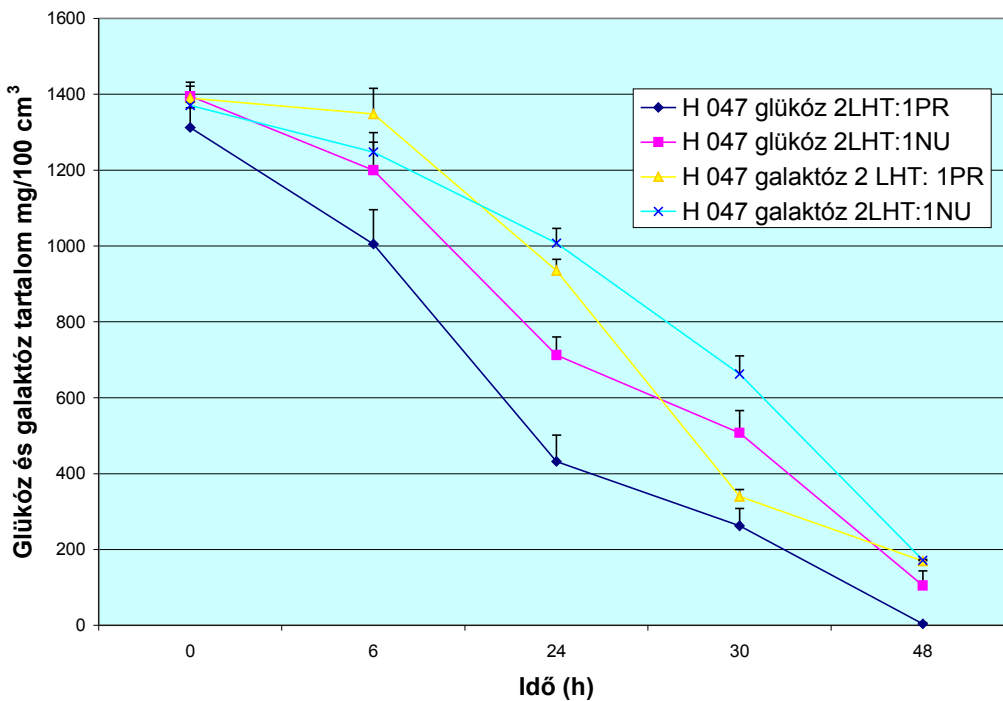
A 28. ábrán a H 047 kultúrával végzett fermentáció adatait hasonlítottam össze. A tendencia itt is hasonló, kezdetben a glükóz fogyása nagyobb ütemű, majd ezt követi a galaktóz mennyiségének csökkenése is.

A 29. ábrán csak a galaktóz tartalmak változását hasonlítottam össze, a kétféle összetételű kefir kultúra tevékenységének nyomán. Jól látható, hogy a 48. órában már nincs szignifikáns különbség a minták galaktóz tartalmában.

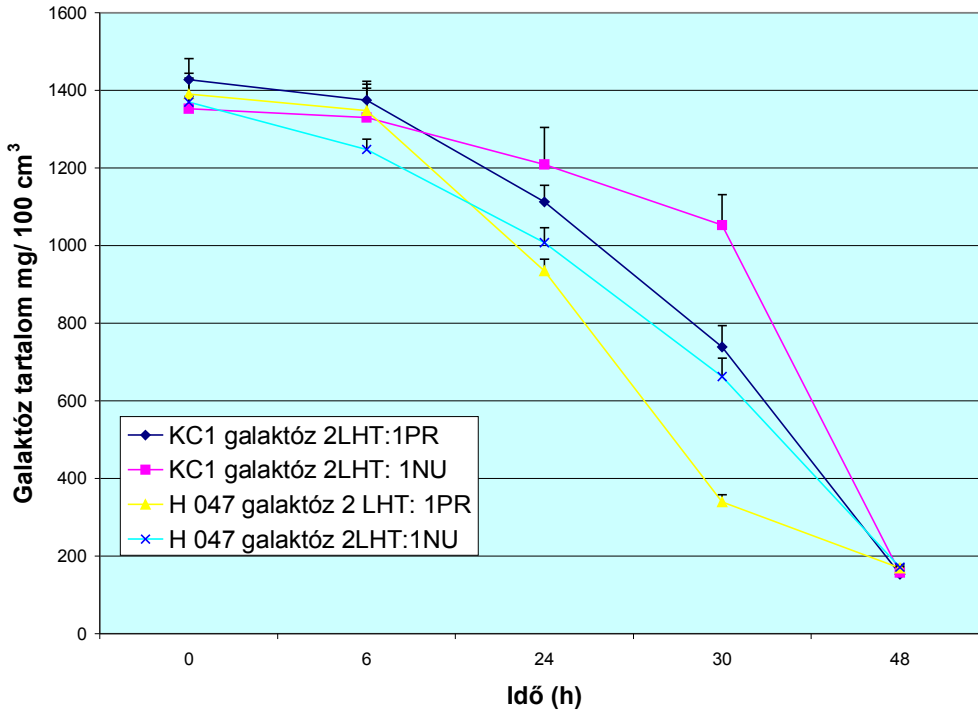
27. sz. ábra Glükóz- és galaktóztartalom változása tej-tápszer keverékekben 25 °C-on KC1 kefir kultúrával n=4; p<0,001



28. sz. ábra Glükóz- és galaktóztartalom változása tej-tápszer keverékekben 25 °C-on H 047 kefir kultúrával n=4; p<0,001



29. sz. ábra H 047 és KC1 kefir kultúrákkal készült termékek galaktóztartalmának összehasonlítása 25 °C-on, tej-tápszer keverékekben n=4; p<0,001



4.4.3.3. A kétféle kefir kultúrával végzett fermentációk pH értékeinek összehasonlítása laktózhidrolizált tej fermentációja során

Laktózhidrolizált tejet kétféle kefir kultúrával fermentálva, mértem a pH értékek változását. Mindkét fermentáció során a pH a tejipari gyakorlatban szokásos érték alá csökkent. A KC1 kultúrával végzett fermentáció esetén a pH p<0,001 szinten szignifikánsan kisebb volt. Az eredményeket a 19. sz. táblázatban tüntettem fel.

A tej tápszer keverékekkel végzett fermentációk pH értékeit a 20. táblázatban foglaltam össze. A KC1 kultúrával a keverékek esetében is p<0,001 szinten szignifikánsan kisebb pH értékeket mértem. Míg a kétféle kultúrával előállított minták között az eltérés szignifikáns volt, addig a kétféle tápszer keverék között ez az eltérés nem tapasztalható ugyanolyan összetételű kefir kultúra esetén.

19. sz. táblázat A pH-értékek változása laktózhidrolizált tejben 48 órás fermentáció során, 25 °C-on

Idő (h)	pH érték			
	n=4			
	Kefir kultúra típusa			
	KC1		H047	
	átlag	SD	átlag	SD
0	6,47	±0,02	6,56	±0,01
6	5,14	±0,05	5,85	±0,04
24	4,21	±0,01	4,36	±0,01
30	4,16	±0,01	4,30	±0,01
48	3,96 ^a	±0,01	4,20 ^b	±0,01

A különböző betűk ugyanabban a sorban szignifikáns különbségeket jelölnek p<0,001 szinten

20. sz. táblázat A pH-értékek változása tej-tápszer keverékekben 48 órás fermentáció során, 25 °C-on

Idő (h)	A kefir kultúra típusa							
	KC1				H047			
	pH							
	n=4							
	2LHT:1PR		2LHT:1NU		2LHT:1PR		2LHT:1NU	
	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD
0	6,49	±0,01	6,50	±0,01	6,53	±0,01	6,52	±0,02
6	4,99	±0,01	4,79	±0,02	4,81	±0,03	4,79	±0,01
24	4,12	±0,01	4,10	±0,01	4,29	±0,01	4,27	±0,02
30	4,06	±0,01	4,07	±0,01	4,25	±0,01	4,17	±0,02
48	3,93 ^a	±0,01	3,92 ^b	±0,01	4,20 ^c	±0,02	4,16 ^d	±0,01

A különböző betűk ugyanabban a sorban szignifikáns különbségeket jelölnek p<0,001 szinten

4.4.3.4. A kétféle kefir kultúrával végzett fermentációk érzékszervi bírálati eredményeinek összehasonlítása

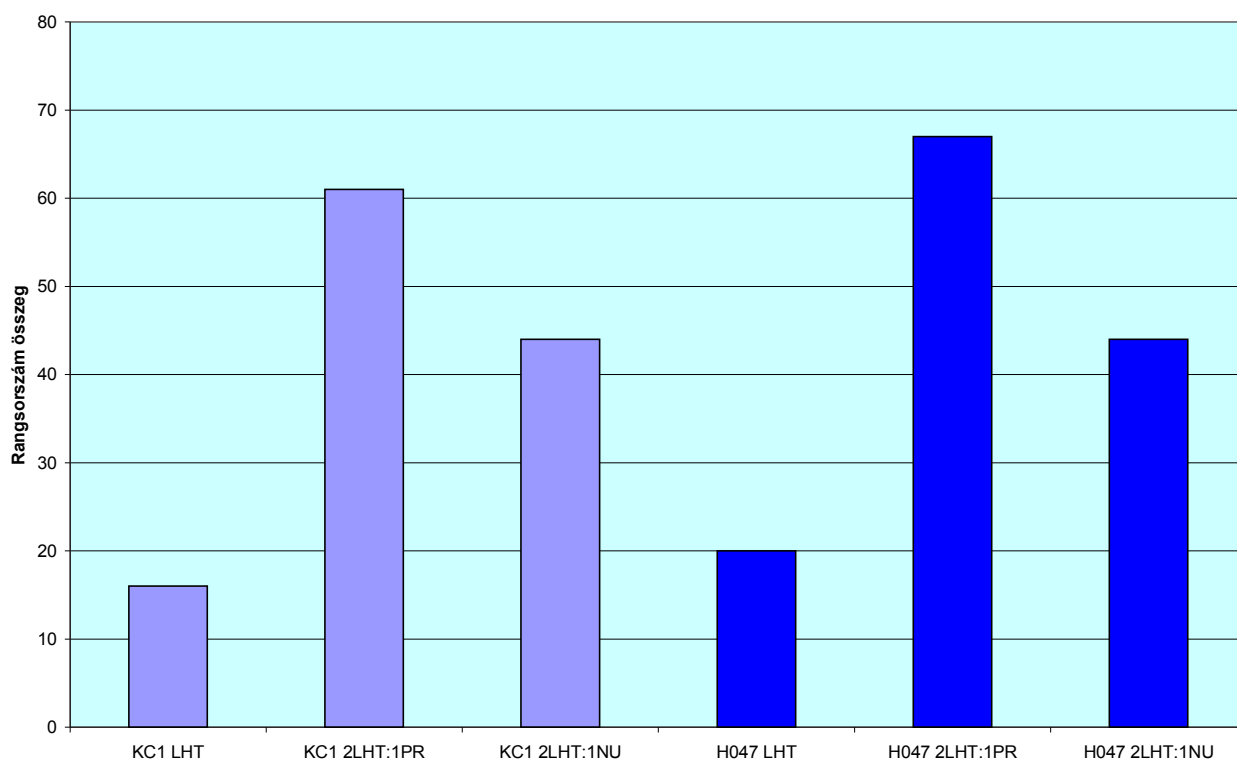
A kétféle kefir kultúrával kezelt mintákat, így a laktózhidrolizált tejből és a tej-tápszer keverékből készületeket is érzékszervi bírálatnak vettem alá. Az érzékszervi bírálat eredményeit a melléklet 36. sz. táblázatában és a 30. ábrán foglaltam össze. Ebben az esetben is a KRAMER (1960) féle rangsorolós módszer segítségével értékeltem. A 12 bírálóra és 6 termékre vonatkoztatott értékek a következők voltak:

99%-os szignifikancia szinten (p< 0,01): 25-59 rangsorszám összeg esetén a Kramer féle értékelés a rangsorszám összegek szignifikáns voltát a megadott p<0,01 szinten a következőképpen

értelmezi: Ha a minta rangsorszám összege 25-nél kisebb, akkor 99%-os szinten jobb, ha 59-nél nagyobb, akkor 99%-os valószínűségi szinten rosszabb a többinél. Azok a minták, amelyeknek rangsorszám összege 25 és 59 közé esik, nem különböznek egymástól szignifikánsan 99%-os valószínűségi szinten.

A melléklet 36. sz. táblázata, a 30. ábra és a KRAMER féle értékhatárok alapján megállapítható, hogy az érzékszervi tulajdonságokat a tápszer fajtája erősen befolyásolta, a Pregominnal készült termékek szignifikánsan rosszabbak voltak a többinél. A KC1 kultúrával készült termékek jobb minősítést kaptak, mint a H 047-es kultúrával fermentáltak, ez a különbség azonban nem volt 99%-os valószínűségi szinten szignifikáns. A csak laktózhidrolizált tejből készült minták szignifikánsan jobbak voltak, mint a tej tápszer keverékből készült termékek, ezek közül viszont a KC1 kultúrával fermentált készítmény az 500 mg-nál magasabb galaktóz tartalom miatt nem illeszthető a diétába.

30. ábra. Laktózhidrolizált tejből, tej-tápszer keverékekből két különböző kefir kultúrával fermentált kefir jellegű termékek érzékszervi bírálatának eredményei n=12; p<0,01



4.5. Új tudományos eredmények

Munkám során elsősorban a galaktozémias betegek étrendjébe illeszthető fermentált tejkészítmények előállítása volt a célom, mivel hasonló termékek kifejlesztésével sem hazai sem nemzetközi téren eddig nem, vagy csak igen érintőlegesen foglalkoztak. Az elvégzett fermentációk alapján megállapítható, hogy

- Laktózhidrolizált tej galaktóztartalma a vizsgált joghurt és probiotikus kultúrák használatával, a kultúrák jellegének megfelelő hőmérsékleten és a szokásos tejipari technológiában használhoz képest kétszeresre növelt fermentációs idővel nem csökkenthető 500 mg/100 cm³ alá. Ezért a galaktozémias betegek étrendjében ezek a készítmények nem használhatók.
- A laktózhidrolizált tejet H047 jelű kefir kultúrával - a rutin tejipari technológiához képest kétszer hosszabb ideig (48 h) - fermentálva 20 °C-on nem, 25 és 30 °C-on viszont előállítható olyan készítmény, amelynek galaktóz tartalma a kívánatos 200-500 mg/100 cm³ közötti tartományban van. A 25 °C-on fermentált minta (*ízesítés után*) beilleszthető a felnőttek, valamint a galaktokináz és az epimeráz hiányban szenvedők diétájába. A 30 °C-on fermentált minta használata – alacsony galaktóztartalma ellenére – kedvezőtlen érzékszervi jellemzői miatt fogyasztásra nem javasolható.
- Laktózhidrolizált tejet KC1 jelű kefir kultúrával - a szokásos tejipari technológiához képest kétszer hosszabb ideig (48 h) – 25 °C-on fermentálva nem állítható elő galaktózszegény készítmény
- Laktózhidrolizált tej és Nutrilon, valamint Pregomin tápszerek 2:1 arányú keverékét 48 órán keresztül fermentálva H 047 és KC1 kefir kultúrával, mind 25 °C-on, mind 30 °C-on előállítható olyan galaktózszegény készítmény, amelynek galaktóztartalma kisebb, mint 200 mg/100 cm³. A 25 °C-on fermentált készítmények beilleszthetők a betegek szélesebb körének – így a fiatalabbak és a galaktóz-1-foszfát-uridil-transzferáz hiányban szenvedők étrendjébe is. A 30 °C-on fermentált minta használata – alacsony galaktóztartalma ellenére – kedvezőtlen érzékszervi jellemzői miatt fogyasztásra nem javasolható.
- Laktózhidrolizált tejet, valamint laktózhidrolizált tej és tápszerek keverékét H 047 kefir kultúrával 25 °C-on 48 órán keresztül fermentálva a keletkező D(-)- és L(+)-tejsav aránya megegyezik a hagyományos tejipari technológiával előállított kefirekben mérhető tejsav arányokkal.

5. Következtetések, javaslatok

- Laktózhidrolizált tejet joghurt kultúrával fermentálva nem állítható elő olyan galaktózszegény savanyított tejkészítmény, amelynek galaktóztartalma 5 órás (a normál tejpári technológiában szokásoshoz képest kétszeres) fermentációs idő alatt a kívánatos 500 mg galaktóz/100 cm³ alá csökkenne.
- Kefir kultúrával 48 órás fermentációs idővel lehetőség van arra, hogy a galaktóztartalom megfelelő körülmények között – a szokásos tejpári gyakorlathoz képest meghosszabbított fermentációs idő, 25 és 30 °C-os hőmérséklet - a kívánatos érték alá csökkenjen.
- A meghosszabbított fermentációs idő és a normál tejpári technológiában előírtnál nagyobb hőmérséklet azt eredményezi, hogy a termékekben nemkívánatos íz és illatanyagok is keletkeznek, amelyek kedvezőtlenül befolyásolják az érzékszervi jellemzőket.
- A kellemetlen illat és aromaanyagok kiküszöbölésének érdekében célszerű lenne rövidebb fermentációs idő alatt elérni ugyanilyen mértékű galaktóztartalom csökkenést. Ehhez olyan élesztőtörzsek társítását javaslom az ipari kefir kultúrák mellé, amelyek az irodalmi adatok szerint tejben (CHEIRSLIP et al. 2003), illetve három féle monoszacharidot tartalmazó modell oldatban (KEATING et al. 2004)) intenzívebben bontják a galaktózt, mint a Magyarországon hozzáférhető, általunk kipróbált fajok, illetve törzsek.

6. Összefoglalás

Munkámban tejcukormentes és galaktózszegény savanyított tejkészítmények előállításának lehetőségeivel foglalkoztam, tejcukorérzékeny és galaktozémias betegek számára. E két betegség következtében a tej és tejtermékek fogyasztását kisebb nagyobb mértékben korlátozni kell, illetve teljesen ki kell zárni az étrendből. Mindkét betegség káros tünetei megszüntethetők az egész életen keresztül tartó diétával, melynek lényege az egyéni toleranciától függő alacsony tejcukor, illetve galaktóz bevitel.

Célkitűzésem az volt, hogy mikroorganizmusok segítségével olyan fermentált tejkészítményeket állítsak elő, amelyek laktóz és galaktóz tartalma nem haladja meg az orvosi gyakorlatban meghatározott, a betegek által még tolerálható határértékeket. Laktóz esetében ez az érték 0,1g laktóz 100 cm³ termékben, galaktozémias diétában pedig a napi összes galaktóz bevitel – a galaktozémia típusától, az életkortól, a beteg egyéni toleranciájától függően – maximum 500 mg lehet. A megfelelően kis galaktóz tartalom mellett törekedtem arra is, hogy a termékek érzékszervi jellemzői kedvezőek legyenek.

Alapanyagként laktózhidrolizált tejet, galaktózmentes tápszereket, illetve ezek 2:1 arányú keverékeit használtuk.

Az alapanyagokat meghatározott szempontok szerint kiválasztott mikroorganizmusok vegyes tenyészetével oltottam be. A kiválasztás szempontjai között szerepelt, hogy a törzsek legyenek jó galaktózbontó és jó aromaanyagtermelő képességűek, emberi egészségre ártalmatlanok, élelmiszeripari gyakorlatban használtak. Kiválasztásra kerültek a következő fajok, illetve törzsek:

Streptococcus thermophilus + *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (N71), *Bifidobacterium bifidum* (N1), *Lactobacillus helveticus* (N43), *Lactobacillus acidophilus* (N42), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* + *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* + *Lactobacillus casei* + *Lactobacillus kefir* + *Candida kefir* (H 047), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* + *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* + *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* + *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* + *Lactobacillus kefir* + *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* + *Saccharomyces unisporus* (Probat KC1)

Módszerek: A kiválasztott mikroorganizmusok fajok közül a probiotikus törzseknél vizsgáltuk

- szénhidrátbontó képességüket API 50 CHL gyorstesztel,
- antibiotikum érzékenységüket HUMAN Resistest baktériumérzékenység-meghatározó korongokkal
- és ellenőriztük a törzsek azonosságát, szintén API 50 CHL gyorsteszt segítségével.

Az alapanyagok joghurtkultúrával, probiotikus kultúrákkal és kefir kultúrákkal való fermentációja során vizsgáltam a tenyészetek

- savtermelő képességét pH mérő műszerrel és Soxhlet Henkel módszerrel,
- szaporodási jellemzőit Breed-féle sejtszámlásos módszerrel, valamint lemezöntéses eljárással China blue agaron,
- glükóz, laktóz és galaktózbontó képességét, D(-)- és L(+)-tejsav termelésüket a Boehringer Mannheim cég által kifejlesztett enzimes módszerrel, spektrofotométerrel.
- Az érzékszervi tulajdonságokat Kramer féle rangsorolós módszerrel értékeltem.

Az eredmények alapján megállapítottam, hogy

- a probiotikus baktériumok és a normál joghurt kultúra használatával tejcukorérzékeny betegek részére jó érzékszervi tulajdonságú fermentált tejkészítmények állíthatók elő, bár a probiotikus törzsek nagyobb savtermelő képessége szükségessé teszi, hogy e termékek ízét gyümölcskészítmény hozzáadásával javítsuk.
- Nem vezettek eredményre a csökkentett galaktóztartalmú termékek előállítására végzett kísérletek a joghurt és a probiotikus kultúrákkal történő fermentációk során, mert a galaktóztartalom nem csökkent a kívánt 500mg/ 100cm³ érték alá.

A fermentációkat ezért az élesztőgombákat is tartalmazó kefir kultúrákkal folytattam tovább.

Megállapítottam, hogy

- Laktózhidrolizált tejet kefir kultúrával beoltva a normál tejipari technológiában hivatalosan használható képest magasabb hőfokon (25 és 30 °C-on) és hosszabb fermentációs idővel (48 óra) sikerült a galaktóztartalmat 200mg/100cm³ és 500 mg/100cm³ közé csökkenteni. Ezeket a készítményeket a betegek csak egy bizonyos köre, a galaktokináz hiányban, az epimeráz hiányban szenvedők illeszthetik az étrendjükbe, valamint a galaktóz-1-foszfát-uridil-transzferáz hiányban szenvedők közül a felnőttek. Természetesen minden esetben ajánlatos a dietetikus tanácsát is kérni a diétába illeszthető mennyiséget illetően.
- 20 °C-on történő fermentációval viszont nem érhető el kellően kicsi galaktóz tartalom a termékben, ezért bár kellemes ízűek, a betegek nem fogyaszthatják.
- A 30 °C-on fermentált termék érzékszervi tulajdonságai nem kedvezőek, ezért nem javasolható a diétába.
- A 25 °C-on fermentált termék érzékszervi tulajdonságai kedvezőbbek.

Fermentációkat végeztem laktózhidrolizált tej és galaktózmentes tápszerek keverékeivel is, melynek célja az volt, hogy a kezdeti galaktóztartalom csökkentésével a fermentáció végére a

galaktóz tartalom $200 \text{ mg}/100 \text{ cm}^3$ alá csökkenjen s a termékek nagyobb biztonsággal és a betegek szélesebb körében használhatóak legyenek.

Megállapítottam, hogy

- $2/3$ rész laktózhidrolizált tej és $1/3$ rész galaktózmentes tápszer keverék arányánál a galaktóz tartalom 25 és $30 \text{ }^\circ\text{C}$ -on végzett 48 órás fermentáció során $200\text{mg}/100\text{cm}^3$ alá csökken, mindkét féle tej-tápszer keverék esetén. Ezek a termékek a betegek szélesebb körének étrendjébe illeszthetők be: a galaktozémia mindhárom típusába tartozó betegek és a gyerekek diétájába is.
- A normál tejipari technológiában használatosnál hosszabb fermentációs idő és a magasabb hőmérséklet különböző mértékben ugyan, de kedvezőtlenül befolyásolta a termékek érzékszervi jellemzőit. A nemkívánatos illat és aromaanyagok kiküszöbölésének érdekében célszerű lenne rövidebb fermentációs idő alatt elérni ugyanilyen mértékű galaktóztartalom csökkenést. Ennek érdekében további kísérletek végzését javaslom olyan élesztőtörzsekkel, amelyek ipari kefir kultúrák mellé társíthatók, s amelyek az irodalmi adatok szerint intenzívebben bontják a galaktózt, mint az általam eddig kipróbált, Magyarországon hozzáférhető kultúrákban található fajok.

Summary

For my PhD research I examined the possibilities of the production of lactose free dairy-products and products with low galactose content for patients suffering from galactosaemia and lactose intolerance.

The treatment of lactose intolerance involves the avoidance of dairy products, although some dairy products can usually be ingested without ill effects. Galactosaemia is treated by life-long galactose restriction. This means that people with galactosaemia should not consume any milk or milk products.

The aim of my experimental work was to develop dairy-products with a lactose content lower than 0,1 g/100 cm³ and with galactose levels lower than 500 mg/100cm³. According to nutrition support protocols, a maximum of 500 mg of galactose per day is allowed for patients, depending on the type of galactosaemia and the age of patient. In addition to lowering the galactose level, I wanted to produce products with pleasant taste and aroma.

Materials

Lactose hydrolysed UHT cow's milk and mixtures of lactose-hydrolysed milk and galactose-free nutriments were used in a 2:1 ratio as a substrate for the fermentations.

The raw materials were inoculated with traditional yoghurt culture, probiotic bacteria and two types of kefir cultures:

Streptococcus thermophilus + *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (N71), *Bifidobacterium bifidum* (N1), *Lactobacillus helveticus* (N43), *Lactobacillus acidophilus* (N42), *Lactococcus lactis* sp. *lactis* + *Lactococcus lactis* sp. *cremoris* + *Lactobacillus casei* + *Lactobacillus kefir* + *Candida kefir* (H 047), *Lactococcus lactis* sp. *lactis* + *Lactococcus lactis* sp. *cremoris* + *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis* + *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris* + *Lactobacillus kefir* + *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* + *Saccharomyces unisprouis* (Probat KC1)

Methods

- The antibiotic sensitivity of probiotic bacteria was examined using the Human Resistest antibiotic discs
- The carbohydrate fermenting ability and the identity of the probiotic strains were verified using API 50 CHL carbohydrate metabolism tests

During the fermentation of the raw materials with the yoghurt culture, probiotic cultures and kefir cultures, the following were examined:

- The acidity of yoghurt samples was expressed as Soxhlet-Henkel degree (SH°). Subsequently the pH of kefir samples was measured with an Argus Sentron IP pH meter.

- The number of viable cells was examined with Breed stain and was obtained by microscopic method. The count of viable yeasts and lactic acid bacteria were determined by the pour-plate method in China-blue agar and were expressed as colony forming units (CFU)
- The level of lactose, galactose, glucose and D(-) and L(+) lactic acid were measured by UV method using the Boehringer Mannheim enzymatic analysis.
- The samples were evaluated organoleptically by the Kramer method.
- SPSS software (version 9.0) was used for data analysis. Statistical analysis of the data was performed using one-way analysis of variance and independent *t*-test. The level of statistical significance was set at $p < 0.001$ for all measures, except organoleptic evaluation, which was set at $p < 0.01$.

Results:

Fermentations produced the following results:

- It is possible to produce lactose free fermented dairy products using yoghurt culture and probiotic bacteria. Due to the higher acid producing capability of probiotic bacteria, it is necessary to add fruits and flavour compounds to improve the taste of these products.
- The level of galactose was higher than 500 mg/100 cm³ in these samples fermented with yoghurt and probiotic bacteria. Thus, they are not suitable for inclusion in a diet for patients with galactosaemia.

In the next round of fermentations, kefir culture, which contains yeast, was used and produced the following results:

- Galactose content decreased to 200-500 mg/100 cm³, but only after using a longer fermentation period (48 hours) and higher temperature (25 and 30 °C) than is used in standard dairy technology. The resulting product might be appropriate for use by patients with certain types of galactosaemia, namely those suffering from galactokinase and epimerase deficiency, and adults suffering from galactose-1-phosphate-uridil-transferase deficiency.
- Fermentation at 20 °C failed to produce a product with sufficiently low levels of galactose for consumption by patients with galactosaemia. However, this fermentation did produce a good tasting product.
- Fermentation at 30 °C was organoleptically unacceptable. It is not recommended for inclusion in the diet for galactosaemia.

It was hypothesised that a product containing less than 200mg/100cm³ galactose could be produced by fermenting a mixture containing a lower galactose concentration. This product would be safe for use by patients with galactosaemia. Therefore, fermentations were conducted using mixtures of lactose-hydrolysed milk and galactose-free nutrients.

The result:

- Galactose content decreased to less than 200 mg/100cm³ when mixtures of 2 parts lactose-hydrolysed milk and 1 part galactose-free nutrient were fermented for 48 hour-long fermentation at 25-30 °C. Two different types of nutrients were fermented producing the same results. The low galactose content of these products would fit into the diet of patients with each of the three types of galactosaemia, as well as into the diets of children with galactosaemia.
- The longer fermentation period and the higher temperatures produced unpleasant organoleptic features.

Conclusion

To avoid the undesirable odor- and aromatic contents of the products, it would be better to achieve the same reduction of galactose content using a shorter fermentation period.

Further study is proposed with strain of yeast which can be applied together with industrial kefir cultures and which metabolise galactose more intensively according scientific data than those available in Hungary at the moment and the ones were used so far.

Mellékletek 1.

Irodalomjegyzék

1. ACOSTA, P.B. & GROSS, K.C. (1995): Hidden sources of galactose in the environment. *European Journal of Pediatrics*. 154 (7Suppl.2) S87-92.
2. ACOSTA, P.B. & YANNICELLI, S. (1993): The Ross Metabolic Formula System. Nutrition support protocols. Ross Laboratories, Division of Abbott laboratories, USA Columbus, Ohio pp.468-510.
3. ADACHI, T., ITOH, T., TOBA, T., ARIHARA K., MUKAI, T. (1990): Ecology of lactic acid bacteria with special reference to kefir-granule formation by *Lactobacillus kefiranoformans*. *Biseibutsu* 6, pp. 15-25.
4. ALBRIGHT, C., D KLEM, E., SHAH, A. A., GALLAGHER, P. (2005): Breast cancer cell-targeted oxidative stress: Enhancement of cancer cell uptake of conjugated linoleic acid, activation of and inhibition of proliferation. *Experimental and Molecular Pathology*. 6. p53.
5. AMINE A., MOSCONE D., BERNARDO, R. A., MARCONI E., PALLESCHI G. (2000): A new enzymatic spectrophotometric assay for the determination of lactulose in milk. *Analytica Chimica Acta*. Vol. 406. Issue 2, p. 217-224.
6. ARKBAGE, K., WITTHÖFT, C., FONDÉN, R., JAGERSTAD, M. (2003): Retention vitamin B₁₂ during manufacture of six fermented dairy products using a validated radio protein-binding assay. *International Dairy Journal*, 13. 2-3. pp.101-109.
7. ARVOLA, T., LAIHO, K., TORKELLI, S., MYKKANEN, H., SALMINEN, S., MAUNULA, L. (1999): Prophylactic *Lactobacillus GG* reduces antibiotic associated diarrhea in children with respiratory infections: a randomized study. *Pediatrics* 104 pp. 1121-2.
8. ASSADI, R., POURAHMAD, R. MOAZAMI, N. (2000): Use of isolated kefir starter cultures in kefir production, *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 16 pp. 541-543
9. BABELLA, GY. (1982): Tej- és savófehérje koncentrátumok hazai kifejlesztése és felhasználási területeik. *Tejipar*, 31 (4) pp. 79-83.
10. BABELLA, GY. (1989): Az ultraszűrés alkalmazásának tudományos és gyakorlati eredményei Magyarországon. *Tejipar*, 39 (1) pp. 17-29.
11. BALATONI M., & KETTING F. (1981): *Tejipari Kézikönyv*. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest, pp. 243-315.
12. BARANYI, J. & ROBERTS, T.A. (1994): A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *Int. J. Food Microbiol.* 23., pp. 277-294.
13. BÁRDOS, GY. (2000): A kétmillió tejcukorérzékeny helyezettje és érdekképviselete Magyarországon. –in: BARNÁK, M. (szerk): A táplálékallergiáról mindenkinek. Magyar Táplálékallergia és Táplálékintolerancia Adatbank Kiadványa. Budapest, pp. 185-189.
14. BELITZ, H.D., GROSCH, W.(1999): *Food Chemistry*. Springer, Budapest, pp. 473-484.
15. BENDER, D.A., & BENDER, A.E. (1997): *Nutrition. A reference handbook*. Oxford University Press. Oxford, New York, Melbourne, Toronto p. 120.
16. BERRY, G.T., NISSIM, I., LIN, Z., MAZUR, A.T., GIBSON, J.B., SEGAL, S. (1995): Endogenous synthesis of galactose in normal men and patients with hereditary galactosaemia. *The Lancet* Vol.346. Iss. 8982. pp. 1073-1074.
17. BHATIA, S.J., KOCHAR, N., ABRAHAM, P., NAIR, N.G., MEHTA, A.P. (1989): *Lactobacillus acidophilus* inhibits growth of *Campylobacter pylori* in vitro. *J. Clin. Microbiol.* 27. pp. 2328-30.
18. BLANCHETTE, L., ROY, D., BELANGER, G. & GAUTHIER, S.F. (1996): Production of cottage cheese using dressing fermented by Bifidobacteria. *Journal of Dairy Science* 79., 8-15.

19. BODÁNSZKY, H. (2000): Tejcukorérzékenység. –in: BARNA, M. (szerk): A táplálékallergiáról mindenkinek. Magyar Táplálékallergia és Táplálékintolerancia Adatbank Kiadványa. Budapest, pp. 177-184.
20. BOEHRINGER MANNHEIM (1998): Methoden der enzymatischen Lebensmittelanalytik mit Test-Combinationen. Boehringer Mannheim GmbH Biochemica, Mannheim p.4-142.
21. BOSCH, A.M., BAKKER, H.D., VAN GENIPP, A.H., VAN KEMPEN, J.V., WANDERS, R.J.A. & WIJBURG, F.A. (2002): Clinical features of galactokinase deficiency: a review of the literature. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 25 (8), 629-634.
22. BOSCH, A.M., GROOTENHUIS, M.A., BAKKER, H.D., HEIJMANS H.S.A., WIJBURG, F.A., & LAST, B.F. (2004): Living with classical galactosaemia: health-related quality of life consequences. *Pediatrics*. 113 (5), 423-428.
23. BOSCH, A.M., PRICK, I., TER HORST, N.M. VAN GENNIP, A.H., WANDERS, R.J.A., DURAN, M., BAKKER, H.D., WIJBURG, F.A. (2002): Oral galactose loading does not affect clinical or biochemical parameters in classical galactosemia. *Journal of Inherited metabolic Disease* 25. Suppl. 1. p. 129.
24. BRANDL, E. & SOBECK-SKAL, E. (1963): Zur methodik der Keimzahlbestimmung in Milch mit Chinablau-lactoseagar Milchwiss. Ber. 13. in: Microbiology Manual, Merck p.80.
25. CHEIRSILP, B., SHIMIZU, H., SHIOYA, S., (2003): Enhanced kefiran production by mixed culture of *Lactobacillus kefiranofaciens* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Biotechnology* Vol.100, Issue 1, pp.43-53.
26. CHEIRSILP, B., SHOJI, H., SHIMIZU, H., SHIOYA, S., (2003): Interactions between *Lactobacillus kefiranofaciens* and *Saccharomyces cerevisiae* in mixed culture for kefiran production, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol. 96, Iss. 3 pp.279-284.
27. CODEX STAN 243-2003: Codex standard for fermented milks p.1-5
28. COGAN T.M. BARBOSA M., BEUVIER, E. BIANCHI-SALVADORE, B., COCCONCELLI, P.S., FERNANDES, I. GOMEZ, J. GOMEZ, R., KALANTZOPOULOS, G., LEDDA, A., MEDINA, M., REA, M.C., RODRIGUEZ, E. (1997): Characterization of lactic acid bacteria in artisanal dairy products, *Journal of Dairy Research* 64, pp. 409-421.
29. CSAPÓ J., CSAPÓNÉ K.ZS. (2002): A tej és tejtermékek a táplálkozásban. Mezőgazda Kiadó, Budapest, pp. 218-383.
30. DAVIDOVITS, M., LEVY, Y., AVRAMOVITZ, T., EISENSTEIN, B. (1993): Calcium-deficiency rickets in a four-year-old boy ,with milk allergy. *Journal of Pediatrics*. 122., 249-251.
31. DEÁK, T., KISKÓ, G., MARÁZ, A., MOHÁCSINÉ F.CS. (2006): Élelmiszer – mikrobiológia. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 38-42.
32. DEMETER, P. (2006): A probiotikumok alkalmazásának lehetőségei emésztőszervi betegségekben. *Lege Artis Medicinae* 16. évf. 1. sz. pp. 41-46.
33. DINAKAR, P. & MISTRY, V.V. (1994): Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in cheddar cheese. *Journal of Dairy Science* 77., 2854-2864.
34. ELMADFA, I. & LEITZMANN, C. (1998): Ernährung des Menschen. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 143.o
35. EU Commission, 1992: EU Commission, Dairy Chemist's Group Doc. VI/5726/92. (1992). Rev.2. Proposal of the Commission.
36. EUROPEAN GALACTOSAEMIA SOCIETY, (2003): Galactosaemia in Europe a Comparison 6. www.galactosaemia.com
37. EUROPEAN GALACTOSAEMIA SOCIETY, (2006): Screening for galactosaemia in Europe. www.galactosaemia.com
38. FACSKÓ, M., JANCSÓ, J., KISS, E. (1981): Hazai kutatások csökkentett laktóztartalmú tejtermékek előállítására. *Tejipar*. 31 (4) pp. 83-85.

39. FAO/WHO (2001): Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. Córdoba, Argentina 1-4. October pp. 5-34.
40. FAO/WHO (2002): Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a Joint FAO/WHO Working group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Canada, April 30 and May 1. p. 6.
41. FIEHRING, C., KOCH, Y., & KOCH, H. (1970): Eljárás laktóz-, glükóz- és galaktózmentes tej előállítására. Magyar Szabadalmi Hivatal, 162832 sz. szabadalmi leírás
42. FONTAN, M.C.G, MARTINEZ, S., FRANCO I., CARBALLO J.(2006): Microbiological and chemical changes during the manufacture of Kefir made from cows' milk, using a commercial starter cultura. *International Dairy Journal*. Vol. 16. Iss.7 p 762-767
43. FORGES, T., MONNIER-BARBARINO, P. (2003): L'insuffisance ovarienne prématurée dans la galactosémie congénitale: physiopathologie et prise en charge. *Pathologie Biologie*. Vol.51, Iss.1 pp. 47-56.
44. FOX, P.A., LUCEY, J.A., COGAN, T.M. (1990): Glycolysis and related reactions during cheese manufacture and ripening. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 29. pp.237-253.
45. FUJISAWA, T., ADACHI, S., TOBA, T., ARIHARA, K., MITSUOKO, T. (1988): *Lactobacillus kefiranofaciens* sp. nov isolated from kefir grains, *International Journal of Systematic Bacteriology* 38, pp. 12-14.
46. GARROTE, G.L., ABRAHAM, A.G., De ANTONI, G.L. (1997): Preservation of kefir grains, a comparative study, *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 30, pp. 77-84.
47. GASZTONYI & LÁSZTITY: Élelmiszerkémia 1.,2 Mezőgazda Kiadó, Budapest 1993. pp. 106, 128-130.
48. GILL, H.S., RUTHERFORD, K.J., CROSS, M.L. and GOPAL, P.K. (2001): Enhancement of immunity in the elderly by dietary supplementation with the probiotic *Bifidobacterium lactis* HN019. *Am. J. Clin. Nutr.* 74 pp. 833-839.
49. GOMES, A.M.P. & MALCATA, F.X. (1998): Development of a probiotic cheese manufactured from goat milk: response surface analysis via technological manipulation. *Journal of Dairy Science* 81., 1492-1507.
50. GOMES, A.M.P. & MALCATA, F.X. (1999): *Bifidobacterium* spp.. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as rprobiotics. *Trends in Food Science & Technology*, 10, 139-157.
51. GOMES, A.M.P., MALCATA, F.X. & KLAVER F.A.M. (1998): Growth enhancement of *Bifidobacterium lactis* Bo and *lactopbacillus acidophilus* Ki by milk hydrolyzates. *Journal of dairy Science*, 81., 2817-2825.
52. GONZÁLES, A. S. P., NARANJO, G. B., MALEC, L. S., VIGO, M. S.(2003): Available lysine, protein digestibility and lactulose in commercial infant formulas. *International Dairy Journal* Vol. 13. Iss. 2-3. p.95-99.
53. GROSS, K.C., ACOSTA P.B. (1991): Fruits and vegetables are a source of galactose: implications in planning the diets of patients with galactosaemia. *J. Inherit. Metab. Dis.* 14. pp. 253-258
54. GRÖNLUND M.M., ARVILOMMI H., KERO P. (2000): Importance of intestinal colonisation int he maturation of humoral immunity in early infancy: a prospective follow up study of healthy infants aged 0-6 mounths. *Arch. Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 83: F1 86-92
55. HANSON L.A., TELEMO E., WIEDERMANN U., (1995).: Immunological mechanism of the gut. *Pediatr. Allergy. Immunol.* 6. (suppl.8.): 7-12.;

56. HARMSSEN H. J. M, WILDEBOER-VELOO A. C. M., RAANGS G.C.(2000): Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula fed infants by using molecular identification and detection methods. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2000. 30: 61-67
57. HEKMAT, S., & McMAHON, D.J. (1992): Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. *Journal of Dairy Science* 75, 1415-1422.
58. HERTZLER, S.,R., HUYNH, L., SAVAIANO, D.A. (1996): How much lactose is low lactose? *Journal of the American Dietetic Association.* Vol.96. Iss.3. pp. 243-246.
59. HOLSINGER, V.H. (1978): Applications of lactose-modified milk and whey. *Food Technology* 3 pp. 35-40.
60. HOLTON, J.B. (1996): Galactosaemia: pathogenesis and treatment. *Journal of Inherited Metabolic Disease* Vol. 19. No.1. p. 3-7.
61. HOLTON, J.B., DE LA CRUZ F., LEVY, H.L. (1993): Galactosemia: the uridin diphosphate galactose deficiency-uridin treatment controversy. *Journal of Pediatrics.* 123 (6), 1009-14.
62. HOLTON, J.B., WALTER, J.H., TYFIELD, L.A. (2001): Galactosaemia. –in: SCRIVER, C.R., BEAUDET, A.L., SLY, W., VALLE, D., CHILDS, B., KINZLER, K.W., VOGELSTEIN, B.: *The molecular and molecular bases of inherited disease.* McGraw-Hill, New York, pp. 1553-1587.
63. <http://industry.biomerieux-usa.com/industry/food/index.htm>
64. IDF, (1992): Influence of technology on the quality of heat treated milk and fluid milk products. (B-Doc. 222). Brussels: International Dairy Federation.
65. IDF, (1993): Influence of technology on the quality of heat treated milk and fluid milk products. (B-Doc. 235). Brussels: International Dairy Federation.
66. ISOULARI, E., SUTUS, Y., KANKAANPAA, H., ARVILOMMI and SALMINEN, S. (2001): Probiotics: Effects on immunity. *Am. J. Clin. Nutr.* 73 pp. 444S-450S.
67. JANCSÓ, J., BABELLA, GY. (1981): A tejfehérjekutatás eredményeinek alkalmazása a fehérjekoncentrátumok előállításában. *Tejipar*, 30 (2) pp.29-35.
68. KALAPOS, M.(1994): D(-)-laktát, D(-)-laktacidózis. A D(-)-tejsav anyagcsere biokémiai áttekintése és klinikai vonatkozásai. *Orvosi Hetilap.* 135. évf. 27. pp1459-1464
69. KANDLER, O. & KUNATH, P. (1983): *Lactobacillus kefir* sp. nov., a component of the microflora of kefir, *Systematic and Applied Microbiology* 4 pp. 286-294.
70. KANDLER, O. & WEISS, N. (1986): Genus *Lactobacillus*. In: P.H.A. SNEATH, N.S. MAIR, M.E. SHARPE and J.G. HOLT (Eds): *Bergey's manual of systematic bacteriology.* Vol. 2, Williams & Wilkins Co, Baltimore, MD, USA (1986) pp.1209-1234.
71. KASPER, H.(1998): Protection against gastrointestinal diseases. Present facts and future developments. *Int. J. Food Microbiol.* 41. 127-31.
72. KAUFMAN, F.R., LORO, M.L., AZEN, C., WENZ? E., GILSANZ, V. (1993): Effect of hypogonadism and deficient calcium intake on bone density in patients with galactosaemia. *Journal of Pediatrics.* 123. pp. 365-370.
73. KEATING, J.D., ROBINSON, J., BOTHAST, J.R., SADDLER, N.J., MANSFIELD, D.S. (2004): Characterization of a unique ethanologenic yeast capable of fermenting galactose, *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 35, Iss. 2-3. pp.242-253.
74. KISHI, A., KAZUKO, U., MATSUBARA, Y., OKUDA, C., KISHIDA, T. (1996): Effect of the oral administration of *Lactobacillus brevis* subsp. *coagulans* on interferon- α producing capacity in humans. *J. Am. Coll. Nutr.* 15 pp. 408-412.
75. KISS, E., SOMOGYI, CS., SCHULER, Á. (2000): Enzymopathiák dietoterápiája. . –in: BARNA, M. (szerk): *A táplálékallergiáról mindenkinek.* Magyar Táplálékallergia és Táplálékintolerancia Adatbank Kiadványa. Budapest, pp. 208-213.

76. KISS, I. (1977): Mikrobiológiai vizsgálati módszerek az élelmiszeriparban. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, p.155.
77. KNICK, B. (1991): Milchzucker-Wirkungen und Möglichkeiten der Anwendung, *Apotheker-Journal*, 13 (5); S 24-32.)
78. KOCH, R., ACOSTA, P., RAGSDALE, N., DONNELL, G.N. (1963): Nutrition in treatment of galactosaemia. *Journal of the American Dietetic Assotiation* 43. 216-222.
79. KOOIMAN, P. (1968): The chemical structure of kefir, the water-soluble polysaccharide of the kefir grain., *Carbohydrate Research* 7 pp. 220-221.
80. KOPP-HOOLIHAN, L. (2001): Prophylactic and therapeutic uses of probiotics. *Jornal of the American Dietetic Assotiation*, 101, (2), p.229-241.
81. KRAMER, A. (1960): A rapid method for determining significance of differences from runk sums. *Food Technology* (11) pp. 576-581.
82. KWAK, H.S., PARK, S.K., KIM, D.S. (1996): Biostabilization of kefir with a nonlactose-fermenting yeast, *Journal of Dairy Science* 79 pp. 937-942.
83. LIU, S.Q. (2003): Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. *International Journal of Food Microbiology* 83 pp. 115-131.
84. LORCA, G.L., WADSSTROM, T., VALDEZ, G.F., LJUNGH, A. (2001): Lactobacillus acidophilus autolysins inhibit *Helicobacter pylori* in vitro. *Curr. Microbiol.* 42. pp. 39-44
85. LOURENS-HATTINGH, A. & VILJOEN, B.C. (2002): Survival of dairy-associated yeasts in yoghurt and yoghurt-related products. *Food Microbiology*. Vol.19. Iss.6. pp. 597-604.
86. MADSEN, C.D. & HENDERSON, R.C. (1997): Calcium intake in children with positive IgG RAST to cow's milk. *J. Paediatr. Child Health.* 33., pp. 209-212.
87. MAGYAR ÉLELMISZERKÖNYV (2004): MÉ 2-51/03 Magyar Élelmiszerkönyv *Biztonság* p.21-25.
88. MAGYAR TÁPLÁLÉKALLEGIA ÉS TÁPLÁLÉKINTOLERANCIA ADATBANK (2007): Tejcukortól mentes füzet. Magyar Táplálékallergia és Táplálékintolerancia Adatbank Kiadványa, Budapest, pp. 1-23.
89. MAO, Y., NOBAEK, S., KASRAVI, B., ADAWI D., STENRAM U., MOLIN, G. (1996): The effects of lactobacillus strains and oat fiber on methotrexate-induced enterocolitis in rats. *Gastroenterology* 111. 334-44.
90. MARCONI, E., MESSIA, M.C., AMINE, A., MOSCONE, D., VERNAZZA, F., STOCCHI, F., and PALLESCHI (2004): Heat treated milk differentiation by a sensitive lactulose assay. *Food Chemistry* Vol. 84, Iss.3., p. 447-450.
91. MARTEAU, P. & RAMBAUD, J.C. (1993): Potential of Using Lactic Acid Bacteria for Therapy and Immunomodulation in Man. *FEMS Microbiology Rewiews* 12, 207-220.
92. MARTEAU, B., de VRESE, M., CELLIER, C. & SCHREZENMEIR, J. (2000): Protection from gastrointestinal diseases using probiotics. *Am.J.Clin.Nutr.*
93. MARTEAU, P.R., DE VRESE, M., CELLIER, C.J. SCHREZENMEIR, J. (2001): protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *Am.J. Clin. Nutr.*, 73 (Suppl.1) pp. 430-6.
94. MERCK (2000): Microbiology Manual. Darmstadt, Cat. No. 2348; 1.10660.0500 p. 82., 170
95. METCLAFE, D.D., SAMPSON, A.H. & SIMON, A.R. (1997): Food allergy: advers reactions to foods and food additives. Blackwell Science, Cambridge, pp. 494-495.
96. MICHELLI, L., UCCELLETTI, D., PALLESCHI (1999): Isolation and characterisation of a ropy *Lactobacillus* strain producing the exopolysaccharide quefiran, *Applied Microbiology and Biotechnology* 53. pp. 69-74.
97. MICSKEY, É. (2000): A probiotikumok, mint új terápiás lehetőségek. *Étrend* 4. p. 6.
98. MOLNÁR, P. (2005): A probiotikumok perspektívái. *Élelmiszervizsgálati Közlemények* LI. 4. p. 213-229.

99. MONTANARI, C., ZAMBONELLI, L., GRAZIA, L., KAMESHEVA, G.K., SHIGAEVA, M.K.H. (1996): *Saccharomyces unisporus* as the principal alcoholic fermentation microorganism of traditional koumiss, *Journal of Dairy Research*, 63 pp. 327-331.
100. MTA ÉKB, OÉTI MTT állásfoglalás (1987): Táplálkozási ajánlások az egészséges, felnőtt lakosság számára. –in: BÍRÓ, GY., LINDNER, K.(szerk): Tápanyagtáblázat. Medicina Könyvkiadó Rt. Budapest, pp. 59-62.
101. NAGAO, F., NAKAYAMA, M., MUTO, T., and OKOMURA, K. (2000): Effects of a fermented milk drink containing *Lactobacillus casei* strain *Shirota* on the immune system in healthy human subjects. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64 pp. 2706-2708.
102. NÉKÁM, K. & SZEMERE P. (1994): Táplálkozási allergiák. Springer Hungarica Kft., Budapest, pp. 218-227.
103. NEVIANI, E., GATTI, M., VANNINI, L., GARDINI, F., SUZZI, G. (2001): Contribution of Gal⁺ lactic acid bacteria to *Saccharomyces cerevisiae* metabolic activity in milk, *International Journal of Food Microbiology* 69, Issues 1-2, pp. 91-99.
104. NOVALIN, S., NEUHAUS, W., KULBE, K.D. (2005): A new innovative process to produce lactose-reduced skim milk. *Journal of Biotechnology* Vol. 119, (2) pp.212-218
105. NUGENT, A.P., ROCHE, H.M., NOONE, E.J., LONG, A., KELLEHER, D.K., and GIBNEY, M.J. (2005): The effects of conjugated linoleic acid supplementation on immune function in healthy volunteers. *European Journal of Clinical Nutrition.* 59, 742-750.
106. O'MAHONY, L., MCCARTHY, J., KELLY, P., HURLEY, G., LUO, F., CHEN, K.(2005): Lactobacillus and bifidobacterium in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterology* 128 (3) 541-51.
107. O'SHEA, M., LAWLESS, F., STANTON, C., DEVERY, R.(1998): Conjugated linoleic acid in bovine milk fat: a food-based approach to cancer chemoprevention. *Trends in Food Science & Technology* Vol.9 Iss.5. May p.192-196
108. OKSANSEN, P.J. SALMINEN, S., SAXELIN, M., HAMALAINEN, P., IHANTOLA-VORMISTO, A., MUURASNIEMI-ISOVIITA, L.(1990): Prevention of traveller's diarrhoea by *Lactobacillus GG*. *Ann. Med.* 22 pp.53-6.
109. PAUSTIAN, T. (2000): Metabolism-Fermentation. University of Wisconsin-Madison. www.bact.wisc.edu/microtextbook/metabolism/fermentation.html
110. PÁLFI, E. (2004): Táplálkozási allergiák és intoleranciák. –in: VERESNÉ BÁLINT M. (szerk): Gyakorlati dietetika. Semmelweis Egyetem Egészségügyi Főiskolai Kar, Budapest, pp.231-250.
111. PINTANDO, M.E., LOPES DA SILVA, J.A., FERNANDES, P.B., MALCATA, F.X., and HOGG, T.A. (1996): Microbiological and rheological studies on Portuguese Kefir grains, *International Journal of Food Science and Technology* 31 pp.15-26.
112. PUHAN, Z. (1989): Technologische Auswirkungen der durch die Membranfiltration verarbeiteten Milchezusammensetzung. *Deutsche Molkerei-Zeitung*, 110 (45) pp. 1442-1445.
113. RIGÓ J. (1999): A tej élettani hatása a dietetikus orvos szemével *Tejgazdaság* LIX. Évf. 2. p.1-5.
114. RODRIGUES, K.L., CAPUTO, L.R.G., CARVALHO, J.C.T.C., EVANGELISTA, J., SCHNEEDORF, J.M. (2005): Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract, *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol. 25, Iss.5. pp. 404-408.
115. ROSSI, J., COSTAMAGNA, L. (1981): Emploi exclusif des concentrés protéiques de lactosérum dans la production de boissons fermentées. *La Lait*, 61, (608) pp. 494-502.
116. RUAS-MADEIDO, P., HUGENHOLTZ, J., ZOON, P. (2002): An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 12. 2-3. pp. 163-171.

117. RUBIO-GOZALBO, M.E., HAMMING, S., VAN KROONENBURGH, M.J., BAKKER, J.A., VERMEER, C., FORGET, P. (2002): Bone mineral density in patients with classic galactosaemia. *Archives of Disease in Childhood*. 87, (1) pp.57-60.
118. RUTHERFORD, P.L., DAVIDSON, D.C., MATTHAI, S.M. (2002): Dietary calcium in galactosaemia. *Journal of Human Nutrition and Dietetics. The official Journal of the British Dietetic Association*. 15 (1) 39-42.
119. SAARELA, M, HALLAMAA, K., MATTILA-SANDHOLM, T., MATTÖ, J. (2003): The effect of lactose derivatives lactulose, lactitol and lactobionic acid on the functional and technological properties of potentially probiotic *Lactobacillus* strains. *International Dairy Journal*. 13, 4, pp. 291-302.
120. SAMONA, A., ROBINSON, R.K. & MARAKIS, S. (1996): Acid production by Bifidobacteria and Yoghurt bacteria during fermentation and storage of milk. *Food Microbiology*, 13., 275-280.
121. SAVIANO, A., ANOUAR, A., SMITH, D.E., LEVITT, M.D. (1984): Lactose malabsorption from yogurt, pasteurized yogurt, sweet acidophilus milk, and cultured milk in lactase-deficient individuals. *American Journal of Clinical Nutrition*. 40. pp. 1219-1223.
122. SCAMAN, C.H., JIM, V.J.W., HARTNETT, C. (2004): Free galactose concentrations in fresh and stored apples (*Malus domestica*) and processed apple products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52 (3) 511-517.
123. SCHEINBACH, S. (1998): Probiotics: Functionality and commercial status. *Biotechnology Advances*, 16, (3) p. 581-608.
124. SCHWEITZER, S., PRYZEMBEL, H., ULLRICH, K., WENMDEL, U. (1998): Empfehlung der Arbeitsgemeinschaft für Pädiatrische Stoffwechselstörungen (APS) zur Behandlung der Galaktosämie –in: THAUER, E., BAKE, G. (Eds.): Galaktosämie. Jubiläumsausgabe Elterninitiative Galaktosämie e.V. Düsseldorf, pp. 21-24.
125. SEILER, H. (2003): A review: Yeasts in kefir and kumiss. *Milchwissenschaft* 58 (7/8). 392-396. o.
126. SHIOMI, M., SASAKI, K., MUROFUSHI, M. and SHIOYA, S. (1982): Antitumor activity in mice of orally administered polysaccharide from kefir grain, *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 35 pp. 75-80.
127. SIEBER, R. COLLOMB, M. AESCHLIMANN, A. JELEN, P. & EYER, H. (2004): Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products. *International Dairy Journal*, 14. 1. pp. 1-15.
128. SOLOMONS, N.W. (2002): Fermentation, fermented foods and lactose intolerance. *Eur. J. Clin. Nutr.* 56. (Suppl. 4). pp. S50-S55.
129. SOMOGYI, CS., KISS, E., VÁRADI, I., NAGY, A. (1998): Ismertető a galaktozémiáról. *A Magyarországi PKU Egyesület Kiadványa. Készült a PHARE LIEN program támogatásával.* Budapest, pp.3-22.
130. SUMMIT, R.L. (1990): Comprehensive pediatrics. The C.V. Mosby Company, St. Louis, pp.756-757.
131. SZAKÁLY, S. (1999): A savanyított tejkészítmények szerepe az emberi egészség megóvásában. *Tejgazdaság*, 59, (2), 15-18.
132. SZAKÁLY S. (szerk.) (2001): Tejgazdaságtan. Dinasztia Kiadó, Budapest, 2001. 183. o. (207-216)
133. SZAKÁLY, S. (2004): A probiotikumokkal kapcsolatos alapismeretek. –in: SZAKÁLY, S. (Ed.): Probiotikumok és humánegészség. Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézetkiadványa, Mosonmagyaróvár, pp.4-17.
134. SZAKÁLY, S., FACSKÓ, M., SCHREM, J., MÉSZÁROS, M. & BAKOS, B. (1983): A hazai laktózinintolerancia felmérésének eredményei. –in: MÓZSIK, GY., JÁVOR, T. &

- SZAKÁLY, S. (Szerk): A táplálkozástudomány helyzete és feladatai Magyarországon. Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 103-112.
135. SZIGETI, J. & KRÁSZ, Á. (1992): Dietetikus igényeket kielégítő savanyú tejkészítmények előállítása. *Tejipar*, 42 (2), pp.25-29.
136. TAKÁCS, M., BARÁNE, H.O., CSANÁDI, J. (1997): Laktózhidrolízis tejtermékekben. *Tejgazdaság*. LVII. Évf. 2. pp.16-21.
137. TAKIZAWA, S., KOJIMA, S., TAMURA, S., FUJINGANA, S., BENNO, Y., NAKASE, T. (1998): The composition of the *Lactobacillus* flora in kefir grains, *Systematic and Applied Microbiology* 21 pp.121-127.
138. THOMAS, B. (1983): Manual of Dietetic Practice. Blackwell Science London pp. 143-144.
139. THOMAS, T.D., CROW, W.L. (1983): Mechanism of D(-)-lactic acid formation in cheddar cheese. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology* 18. pp. 131-141.
140. VANDERHOOF, J.A., WHITNEY, D.B., ANTONSON, D.L., HANNER, T.L., LUPO, J.V., YOUNG, R.J. (1999): *Lactobacillus GG* in prevention of antibiotic associated diarrhea in children. *J. Pediatr.* 135, pp. 564-8.
141. WAHLE, K.W.J, HEYS. S.D., ROTONDO, D.: Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Progress in Lipid Research*. Vol. 43. 6. 2004. 553-587.
142. WALKER, W.A. (2000): Pediatric gastrointestinal disease. Pathophysiology, Diagnosis, Management. B.C. DECKER Inc. Hamilton, Ontario, pp. 1070-1446.
143. WASSERMANN, B.P. (1984): Thermostable enzyme production. *Food Technology*. 2. pp. 78-88.
144. WEESE, S.J., GOSNELL, K., WEST, P., GROPER, S.S. (2003): Galactose content of baby food meats: consideration for infants with galactosaemia. *Journal of the American Dietetic Association*. 103 (3) 373-375.
145. WEIß, R.F. (1967): Milchzucker in der Therapie der Darmkrankheiten. *Medizin und Ernährung*. 8 (9), S, 210-212.)
146. WESSELS, S. AXELSSON L., HANSEN, E.B., VUYST L., LAULUND, S., LAHTEENMAKI, L., LINDGREN, S., MOLLET, B., SALMINEN, S., WRIGHT, A. (2004): The lactic acid bacteria, the food chain, and their regulation. *Trend sin Food Science and Technology*. 15 pp. 498-505.
147. WITTHUHN, R:C, SCHOEMAN, T. and BRITZ, T.J.(2004): Isolation and characterisation of the microbial population of different South African Kefir grains, *International Journal of Dairy technology* 57 pp.33-37.
148. WITTHUHN, R.C., SCHOEMAN, T. and BRITZ, T.J.(2005): Characterisation of the microbial population at different stages of Kefir production and kefir grain mass cultivation, *International Dairy Journal*, Vol. 15. Issue 4. p. 383-389.
149. WOUTERS, J.T.M., AYAD, E.H.E.; HUGENHOLTZ, J., and SMIT, G., (2002): Microbes from raw milk for fermented dairy products, *International Dairy Journal* 12, pp. 91-109.
150. WYDER, M. & PUHAN, Z. (1997): A rapid method for identification of yeasts from kefir at species level, *Milchwissenschaft* 52 pp. 327-329
151. WYDER, M., KEILE, L., TEUBER, M. (1999): Description of *Saccharomyces turicensis* sp. nov., a new species from kefir, *Systematic and Applied Microbiology* 22 pp. 420-425.
152. YOKOKURA, T. (1994): Antitumour and immunostimulating activity of *Lactobacillus casei*. *Jpn. Dairy Food Sci.* 43 pp. A141-A150.
153. ZIEGLER, E.E., FILER, J.L. (1996): Present Knowledge in Nutrition. ILSI Press Washington pp. 39-625.
154. www.chr-hansen.com (2002): Kefir Typ Richtlinien,. pp.1-4.
155. www.taplalekallergia.hu

Mellékletek 2.

1. sz. táblázat A tehéntej fehérjéi

Fehérjefrakció	Genetikai variáns	Előfordulás a tejfehérjében %	Molekulasúly (kDa)	Foszfortartalom
Kazein		80		0,9
α_{s1} -kazein	A,B,C,D,E	34	23,6	1,1
α_{s2} -kazein	A,B,C,D	8	25,2	1,4
κ -kazein	A,B	9	19	0,2
β -kazein	A ¹ , A ² , A ³ , B, C, D, E	25	24	0,6
γ -kazein		4	12-21	0,1
γ_1 -kazein	A ¹ , A ² , A ³ , B,		20,5	
γ_2 -kazein	A ¹ , A ² , A ³ , B,		11,8	
γ_3 -kazein	A ¹ , A ² , A ³ , B,		11,6	
Savófehérje		20		
β -laktoglobulin	A,B,C,D,E,F,G	9	18,3	
α -laktalbumin	A,B,C	4	14,2	
szérumalbumin	A	1	66,3	
Immunoglobulinok		2		
I _g G ₁			162	
I _g G ₂			152	
I _g A			400	
I _g M			950	
Proteóz-pepton		4	4-41	

(Forrás: BELITZ & GROSCH,1999)

2. sz. táblázat A tej aminosav összetétele

Aminosav	Összes fehérjében g/100g	Kazeinben g/100g	Savófehérjében g/100g
Alanin	3,7	3,1	5,5
Arginin	3,6	4,1	3,3
Aszparaginsav	8,2	7,0	11,0
Cisztin	0,8	0,3	3,0
Glutaminsav	22,8	23,4	15,5
Glicin	2,2	2,1	3,5
Hisztidin	2,8	3,0	2,4
Izoleucin	6,2	5,7	7,0
Leucin	10,4	10,5	11,8
Lizin	8,3	8,2	9,6
Metionin	2,9	3,0	2,4
Fenilalanin	5,3	5,1	4,2
Prolin	10,2	12,0	4,4
Szerin	5,8	5,5	5,5
Threonin	4,8	4,4	8,5
Triptofán	1,5	1,5	2,1
Tirozin	5,4	6,1	4,2
Valin	6,8	7,0	7,5

(Forrás: BELITZ & GROSCH, 1999)

3.sz. táblázat A tejsír főbb zsírsavai

Zsírsav	Átlag (%)	Szélsőértékek
vajsav	3,6	2,5-6,2
kapronsav	2,3	1,4-3,8
kaprilsav	1,3	0,5-1,9
kaprinsav	2,7	1,9-4,0
laurinsav	3,3	1,9-4,7
mirisztinsav	10,7	7,8-14,0
mirisztolajsav	1,4	0,3-2,6
pentadekánsav	1,2	0,4-2,3
palmitinsav	27,6	22,0-41,9
palmitolajsav	2,6	0,9-4,6
sztearinsav	10,1	6,2-13,6
olajsav	26,0	19,7-34,0
linolsav	2,5	0,8-5,2
linolénsav	1,4	0,3-2,9

(Forrás: CSAPÓ & CSAPÓNÉ, 2002)

4. sz. táblázat A tej vitamintartalma

Vitamin	Mennyiség (mg/dm ³)	
	átlagérték	szélsőértékek
A	0,37	0,10-0,90
Karotin	0,21	0,05-0,40
B ₁ (tiamin)	0,42	0,20-0,80
B ₂ (riboflavin)	1,72	0,8-2,6
B ₆ (piridoxin)	0,48	0,17-1,9
B ₁₂ (kobalamin)	0,0045	0,002-0,007
Nikotinsav	0,92	0,3-2,0
Folsav	0,053	0,01-0,10
Pantoténsav	3,6	2,6-4,9
Inozitol	160	30-400
C (aszcorbinsav)	18	5-30
D (kolekalciferol)	0,0008	0,0001-0,002
E (tokoferol)	1,1	0,2-2,0
K	0,03	ny-0,17
Biotin	0,036	0,01-0,07
Kolin	170	50-450

(Forrás: CSAPÓ & CSAPÓNÉ, 2002)

5. sz. táblázat. A javasolt napi vitaminfelvétel férfiaknak és nőknek, valamint az 1 liter tejjel kielégíthető szükséglet *(Az adatok átlagok, amelyeket néha igen nagy különbségek alapján állítottak össze a szerzők.)*

Vitamin	A javasolt napi felvétel (mg)		Az 1 liter tejjel kielégíthető mennyiség (%)
	férfi	nő	
A	1,3	1,2	46
B ₁ (tiamin)	1,4	1,2	32
B ₂ (riboflavin)	1,7	1,6	104
B ₆ (piridoxin)	2,0	1,9	25
B ₁₂ (kobalamin)	0,0004	0,0004	113
Nikotinsav	16	14	6
Folsav	0,35	0,35	15
Pantoténsav	8	8	45
C (aszcorbinsav)	60	60	30
D (kolekalciferol)	0,0025	0,0025	32
E (tokoferol)	10	10	11
K	2	2	2

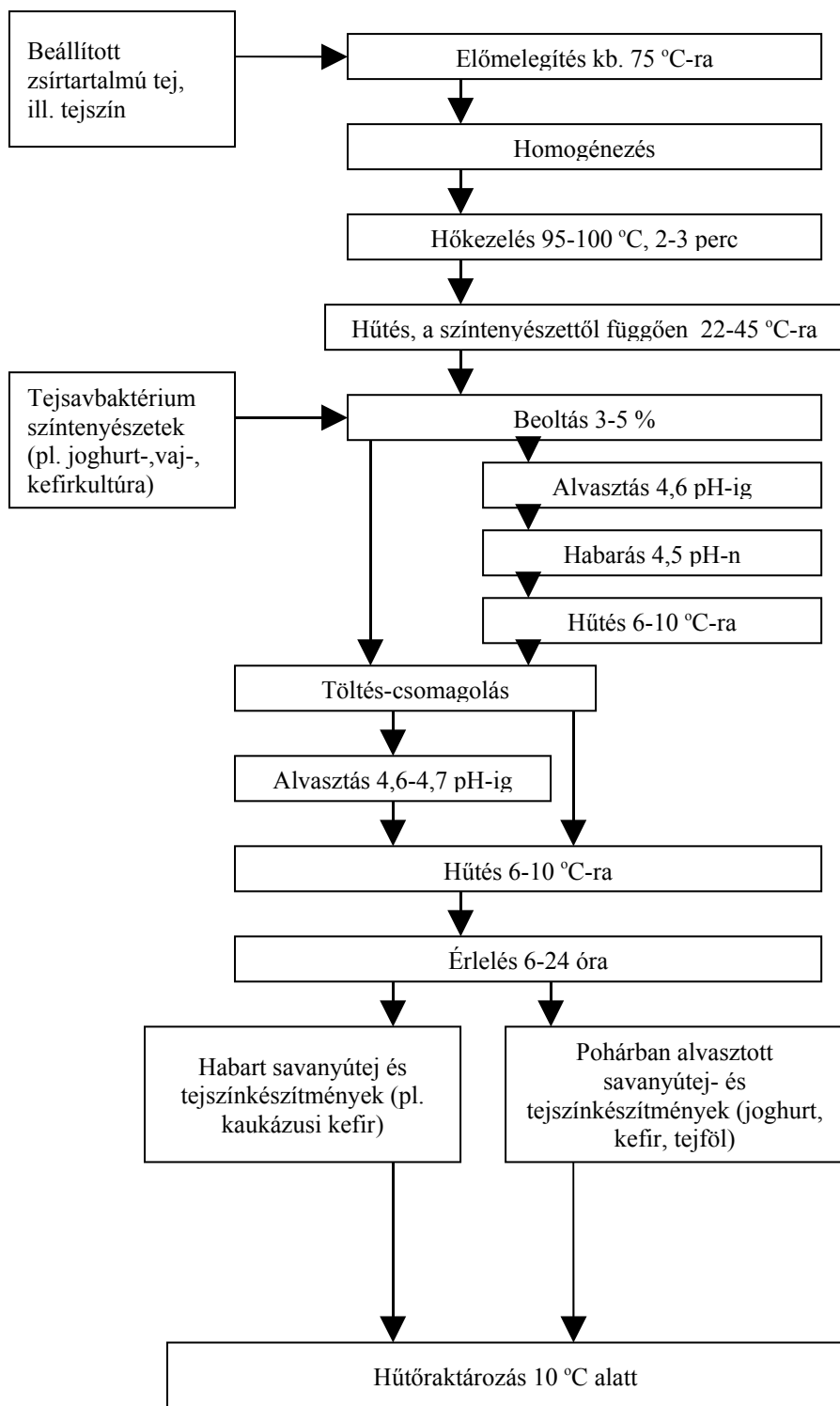
(Forrás: CSAPÓ & CSAPÓNÉ, 2002)

6. sz. táblázat A tej makro- és mikroelem tartalma

Ásványi anyagok	A tej összetétele (g/dm ³)	
	átlagérték	szélsőértéke
Kalcium	1,21	0,9-1,4
Foszfor	0,95	0,7-1,2
Kálium	1,5	1,0-2,0
Nátrium	0,47	0,3-0,7
Klór	1,03	0,8-1,4
Magnézium	0,12	0,05-0,24
Kén	0,32	0,2-0,4
Mikroelemek	(μg/dm ³)	
Réz	120	10-700
Vas	530	60-1000
Kobalt	0,8	0,1-2
Molibdén	55	13-150
Cink	3600	1500-7000
Mangán	50	10-280
Jód	75	5-400
Fluor	125	10-350
Szelén	25	2-70

(Forrás: CSAPÓ & CSAPÓNÉ, 2002)

1. sz. ábra A natúr savanyú tej- és tejszínekészítmények gyártási folyamata



(Forrás: SZAKÁLY, 2001)

7. sz táblázat A jelenleg a *Bifidobacterium* és a *Lactobacillus* nemzetségbe tartozó fajok listája

Lactobacillus		Bifidobacterium	
<i>L. acetotolerans</i>	<i>L. homohiochii</i>	<i>B. adolescentis</i> ^a	<i>B. indicum</i>
<i>L. acidophilus</i> ^a	<i>L. intestinalis</i>	<i>B. angulatum</i> ^a	<i>B. infantis</i> ^a
<i>L. agilis</i>	<i>L. jensenii</i> ^a	<i>B. animalis</i>	<i>B. lactis</i>
<i>L. alimentarius</i>	<i>L. Johnsonii</i>	<i>B. asteroides</i>	<i>B. longum</i> ^a
<i>L. amylophilus</i>	<i>L. kandleri</i>	<i>B. bifidum</i> ^a	<i>B. magnum</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>L. kefir</i>	<i>B. boum</i>	<i>B. merycicum</i>
<i>L. avarius</i>	<i>L. kefiranofaciens</i>	<i>B. breva</i> ^a	<i>B. minimum</i>
<i>L. bif fermentans</i>	<i>L. malefermentans</i>	<i>B. catenulatum</i> ^a	<i>B.</i>
<i>L. brevis</i> ^a	<i>L. mali</i>	<i>B. choerinum</i>	<i>pseudocatenulatum</i> ^a
<i>L. buchneri</i> ^a	<i>L. minor</i>	<i>B. coryneforme</i>	<i>B. pseudolongum</i>
<i>L. casei subsp. casei</i> ^a	<i>L. murinus</i>	<i>B. cuniculi</i>	<i>B. pullorum</i>
<i>L. collinoides</i>	<i>L. oris</i> ^a	<i>B. dentium</i> ^a	<i>B. ruminantium</i>
<i>L. confusus</i>	<i>L. parabuchneri</i> ^a	<i>B. gallicum</i>	<i>B. saeculare</i>
<i>L. corynoformis</i>	<i>L. paracasei</i> ^a	<i>B. gallinarum</i>	<i>B. subtile</i>
<i>L. crispatus</i> ^a	<i>L. pentosus</i>	<i>B. globosum</i> ^a	<i>B. suis</i>
<i>L. curvatus</i>	<i>L. pontis</i>		<i>B. thermophilum</i>
<i>L. delbrueckii</i>	<i>L. plantarum</i> ^a		
<i>L. farciminis</i>	<i>L. reuteri</i> ^a		
<i>L. fermentum</i> ^a	<i>L. rhamnosus</i> ^a		
<i>L. frucivorans</i>	<i>L. ruminis</i>		
<i>L. fructosus</i>	<i>L. sake</i>		
<i>L. gallinarum</i>	<i>L. salivarius</i> ^a		
<i>L. gasseri</i> ^a	<i>L. sanfrancisco</i>		
<i>L. graminis</i>	<i>L. sharpeae</i>		
<i>L. halotolerans</i>	<i>L. suebicus</i>		
<i>L. hamsteri</i>	<i>L. vaccिनostercus</i>		
<i>L. helveticus</i>	<i>L. vaginalis</i> ^a		
<i>L. hilgardii</i>	<i>L. viridescens</i>		

Az ^a-val jelölt fajok humán eredetűek

(Forrás: GOMES & MALCATA, 1999)

8. sz. táblázat *Bifidobacterium* spp. és *Lactobacillus acidophilus* tartalmú tejkészítmények

Termék	Ország	Mikroorganizmus
A-38	Dánia	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> spp. <i>cremoris</i> , mezofil lactococcusok
Acidophilus buttermilk	USA	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> spp. <i>cremoris</i> , mezofil lactococcusok
Progurt	USA	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , mezofil lactococcusok
Acidophilus milk	Több ország	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Acidophilus yeast milk	Egykori Szovjetunió utódállamai	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Saccharomyces fragilis</i> , <i>S.</i> <i>cerevisiae</i>
A-B yoghurt	Franciaország	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>
Cultura	Dánia	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>
Milky	Olaszország	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>
Nu-Trish A/B Milk	USA	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>
Biomild	Több ország	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium</i> spp.
Acidophilus yoghurt	Több ország	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L.</i> <i>delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>
B-Active	Franciaország	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L.</i> <i>delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>

8. sz táblázat folytatása

Fresh BA	UK	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>
Kyr	Olaszország	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>
Yoplus	Australia	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>
Biogarde	Németország	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>
Ofilus	Franciaország	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>
Philus	Norvégia	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>
Bifidus milk	Több ország	<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>B. longum</i>
Bifighurt	Németország	<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>
Bioghurt	Németország	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>
Biokys	Csehország	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i>
Mil-Mil	Japan	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>B. breve</i>
Akult	Japan	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>B. breve</i> , <i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>

(Forrás: GOMES & MALCATA, 1999)

9. sz. táblázat Tejsavbaktériumok tejsav termelő képessége

Mikroorganizmusok	L-tejsav (%)	Megjegyzés
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	0,6-4	termofil, homofermentatív, csak D-, vagy csak L-, vagy D- és L-tejsav termelők
<i>L. lactis</i>	0	
<i>L. leichmanii</i>		
<i>L. delbrueckii</i>		
<i>L. helveticus</i>	70	
<i>L. jugurii</i>		
<i>L. acidophilus</i>	60	
<i>L. casei subsp. casei</i>		mezofil, homofermentatív, csak D-, vagy csak L-, vagy D- és L- tejsav termelők
<i>L. casei subsp. alactosus</i>		
<i>L. casei subsp. pseudoplantarum</i>		
<i>L. casei subsp. fusiformis</i>		
<i>L. plantarum</i>		
<i>L. curvatus</i>		
<i>L. fermentum</i>		heterofermentatív, D- és L- tejsav termelők
<i>L. cellobiosus</i>		
<i>L. brevii</i>		
<i>L. hilgardii</i>		
<i>L. vermiformis</i>		
<i>L. reuteri</i>		
<i>Streptococcus thermophilus</i>	99	termofil, homofermentatív
<i>S. faecium</i>		
<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>		mezofil, homofermentatív
<i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i>	92-99	
	99	
<i>Leuconostoc cremoris</i>		heterofermentatív, D-tejsav termelők
<i>L. mesenteroides,</i>		
<i>L. dextranicum</i>		
<i>L. lactis</i>		
<i>Pediococcus acidilactis</i>		termofil, homofermentatív, D- és L- tejsav termelők

(Forrás: BELITZ & GROSCH, 1999)

10.sz. táblázat A laktómalabszorpció előfordulási gyakorisága különböző országokban

Ország	Gyakoriság (%)
Észak-Amerika (fehér lakosság)	5-20%
Észak-Amerika (fekete lakosság)	70-75%
Észak-Amerika (indián lakosság)	66%
Afrika	50%
Nigéria	58-90%
Ázsia	55-90%
Eszkimó	88%
Izrael zsidó lakosság	61%
Izrael arab lakosság	81%
Mexikó	74%
Japán	90%
Európa	15%
Dánia	3%
Svédország	3%
Magyarország	16-37%
Dél-Franciaország	40%

(Forrás: BODÁNSZKY, 2000)

11. sz. táblázat Gyümölcsök és zöldségfélék galaktóz tartalma

Gyümölcs	Galaktóz tartalom mg/100g	Zöldség	Galaktóz tartalom mg/100g
Füge (szárított)	4100,0	Feles borsó (zöld)	493,0
Szőlő	400,0	Zöldborsó	161,0
Sárgadinnye	26,7	Feles borsó (sárga)	144,0
Áfonya	26,2	Paradicsom	23,0
Ananász	18,7	Paprika	10,2
Görögdinnye	14,7	Tök	9,9
Datolya	11,5	Kelbimbó	9,2
Kiwi	9,8	Brokkoli	6,8
Banán	9,2	Sárgarépa	6,2
Málna	8,4	Hagyma	5,1
Alma	8,3	Cukorborsó	4,9
Körte	7,3	Fehérrépa	4,9
Szilva	6,3	Tojásgyümölcs	4,7
Őszibarack	5,5	Karfiol	4,3
Földieper	4,6	Uborka	4,0
Narancs	4,3	Csemegekukorica	3,7
Grapefruit	4,1	Káposzta	3,3
Mangó	2,9	Cukkíni	3,3
Cseresznye	2,7	Fejes saláta	3,1
Kajsziarack	1,1	Zeller	2,4

(Forrás: GROSS & ACOSTA, 1991)

12. sz. táblázat A galaktózmentes tápszerek tápanyagösszetétele

Pregomin		100 cm ³ tápszeroldat	Nutrilon		100 cm ³ tápszeroldat
Energia	kJ/kcal	315/75	Energia	kJ/kcal	280/66
Fehérje	g	2	Fehérje	g	1,8
Zsír	g	3,6	Zsír	g	3,6
Szénhidrátok	g	8,6	Szénhidrátok	g	8,6
			Laktóz	g	0,005
Glükóz	g	0,4	Glükóz	g	0,2
Maltóz	g	0,5	Maltóz	g	2,5
Poliszacharidok	g	7,7	Poliszacharidok	g	4
Ásványi anyagok			Ásványi anyagok		
Nátrium	mg	42	Nátrium	mg	17,7
Kálium	mg	92	Kálium	mg	66,5
Klorid	mg	45	Klorid	mg	39,9
Kalcium	mg	57	Kalcium	mg	53,2
Foszfor	mg	29	Foszfor	mg	26,6
Magnézium	mg	11	Magnézium	mg	5,1
Vas	mg	1,8	Vas	mg	0,8
Cink	mg	0,6	Cink	mg	0,6
Réz	µg	60	Réz	µg	39,9
Mangán	µg	40	Mangán	µg	32,9
Jód	µg	7,5	Jód	µg	13,3
Vitaminok			Vitaminok		
A-vitamin	µg	70	A-vitamin	µg	75,9
D ₃ -vitamin	µg	1,2	D ₃ -vitamin	µg	1,1
E-vitamin	mg	0,8	E-vitamin	mg	1,3
K ₁ -vitamin	µg	4,7	K-vitamin	µg	5,1
C-vitamin	mg	7,5	C-vitamin	mg	7,6
B ₁ -vitamin	mg	50	B ₁ -vitamin	mg	0,04
B ₂ -vitamin	mg	60	B ₂ -vitamin	mg	0,1
B ₆ -vitamin	mg	40	B ₆ -vitamin	mg	0,04
B ₁₂ -vitamin	µg	0,2	B ₁₂ -vitamin	µg	0,2
Folsav	µg	12	Folsav	µg	10,1
Pantoténsav	µg	500	Pantoténsav	mg	0,3
Nikotinsav	µg	500	Niacin	mg	0,4
L-karnitin	mg	1,1	Biotin	µg	1,5
Biotin	µg	1,5	Kolin	mg	6,9
			Taurin	mg	4,5

13. sz. táblázat. A API 50 CH testben vizsgált szénhidrátok

	Szénhidrát		Szénhidrát		Szénhidrát		Szénhidrát		Szénhidrát
0	Kontroll	10	galaktóz	20	α-metil-D mannozid	30	melibióz	40	D-turanóz
1	glicerol	11	glükóz	21	α-metil-D- glükozid	31	szacharóz	41	D-lixóz
2	eritrit	12	fruktóz	22	N-acetil glükózamin	32	trehalóz	42	D-tagatóz
3	D-arabinóz	13	mannóz	23	Amigdalín	33	inulin	43	D-fukóz
4	L-arabinóz	14	szorbóz	24	arbutin	34	melicitóz	44	L-fukóz
5	ribóz	15	rhamnóz	25	eszkulin*	35	raffinóz	45	D-arabit

6	D-xilóz	16	dulcit	26	szalicin	36	keményítő	46	L-arabit
7	L-xilóz	17	inozit	27	cellobióz	37	glikogén	47	glükonát
8	adonit	18	mannit	28	maltóz	38	xilol	48	2-keto- glükonát
9	β -metil- Dglükózid	19	szorbit	29	laktóz	39	gentibióz	49	5-keto- glükonát

*Az eszkuilin bontását fekete szín megjelenése jelzi, Fe (II) ionok jelenlétében

14. sz. táblázat Módosított Müller –Hinton-féle táptalaj

Összetevő	Mennyiség
Marhahúskivonat (Oxoid)	5,0 g
Lactacid pepton	17,5 g
Glükóz	2,0 g
Agar agar	13-17 g
Desztillált víz	1000 ml
A táptalaj pH-ja autoklávozás után	7,0-7,2

15. sz. táblázat A fermentációk összefoglalása

A fermentációk alapanyaga			
Laktózhidrolizált tej (LHT)		Laktózhidrolizált tej és tápszer keverékek (2LHT:1NU;2LHT:1PR)	
Vegyes tenyészet	Hőfok °C	Vegyes tenyészet	Hőfok °C
<i>Streptococcus thermophilus</i> + <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> (N71)	45	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> + <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> + <i>Lactobacillus casei</i> + <i>Lactobacillus kefir</i> + <i>Candida kefir</i> (H047)	20 25 30
<i>Bifidobacterium bifidum</i> (N1) + <i>Lactobacillus helveticus</i> (N43)	45	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> + <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> + <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i> + <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> + <i>Lactobacillus kefir</i> + <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>marxianus</i> + <i>Saccharomyces unisprou</i> (KC1)	25
<i>Bifidobacterium bifidum</i> (N1) + <i>Lactobacillus acidophilus</i> (N42)	43		
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> + <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> + <i>Lactobacillus casei</i> + <i>Lactobacillus kefir</i> + <i>Candida kefir</i> (H047)	20 25 30		
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> + <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> + <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i> + <i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> + <i>Lactobacillus kefir</i> + <i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>marxianus</i> + <i>Saccharomyces unisprou</i> (KC1)	25		

16. sz táblázat Szénhidrátok erjesztése 48 órás 37 °C-os inkubáció után

Szénhidrát	Törzsek			Szénhidrát	Törzsek		
	<i>L.</i> <i>acidophilu</i> <i>s</i> N42	<i>L.</i> <i>helveticu</i> <i>s</i> N43	<i>B.</i> <i>bifidu</i> <i>m</i> N1		<i>L.</i> <i>acidophilu</i> <i>s</i> N42	<i>L.</i> <i>helveticu</i> <i>s</i> N43	<i>B.</i> <i>bifidu</i> <i>m</i> N1
Kontroll	-	-	-	eszkulin	+	-	+
glicerol	-	-	-	szalicin	+	-	+
eritrit	-	-	-	cellobióz	+	-	+/-
D-arabinóz	-	-	-	maltóz	+	+	+/-
L-arabinóz	-	-	-	laktóz	+	+	+
ribóz	+	-	+	melibióz	-	-	-
D-xilóz	-	-	-	szacharóz	-	-	-
L-xilóz	-	-	-	trehalóz	+	+	+
adonit	-	-	-	inulin	-	-	-
β -metil-Dglükózid	-	-	-	Melicitóz	+	-	-
Galaktóz	+	+	+	raffinóz	-	-	-
Glükóz	+	+	+	keményítő	-	-	-
Fruktóz	+	-	+	Glikogén	-	-	-
Mannóz	+	+	+	xilol	-	-	-
Szorbóz	+	-	+	gentibióz	-	-	-
Rhamnóz	+	-	+	D-turanóz	+	-	-
Dulcit	-	-	+	D-lixóz	-	-	-
Inozit	+/-	-	-	D-tagatóz	+	-	+
Mannit	+	-	+	D-fukóz	-	-	-
szorbit	+	-	+	L-fukóz	-	-	-
α -metil-D mannozid	-	-	-	D-arabit	-	-	-
α -metil-D-glükózid	+	-	+	L-arabit	-	-	-
N-acetil glükózamin	+	+	+	Glükonát	-	-	+
Amigdalín	+	-	+	2-keto-glükonát	-	-	-
arbutin	+	-	+	5-keto-glükonát	-	-	-

17. sz. táblázat. Joghurtok érzékszervi bírálatának eredményei

Minták	<i>S. thermophilus</i> +	<i>B. bifidum</i> +	<i>B. bifidum</i> +
	<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. helveticus</i>	<i>L. acidophilus</i>
Bírálok	Rangsorszám		
1.	1	3	2
2.	1	2	3
3.	1	3	2
4.	2	1	3
5.	3	1	2
6.	1	3	2
7.	1	2	3
8.	1	3	2
9.	1	3	2
10.	1	3	2
Rangsorszámok összege	13 ^a	24 ^b	23 ^b

^a: 99%-os szignifikancia szinten jobb, mint a másik két minta

18. sz. táblázat Kefir kultúra tejsavbaktériumainak szaporodása laktózhidrolizált tejben háromféle hőfokon

Idő (h)	Összes élő mezofil tejsavbaktérium szám					
	lg CFU/cm ³					
	n=4					
	20 °C		25 °C		30 °C	
	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD
0	6,34	±0,48	5,97	±0,08	5,55	±0,40
6	7,75	±0,16	7,55	±0,43	7,64	±0,40
24	8,37	±0,13	8,46	±0,12	8,40	±0,18
30	8,13	±0,08	8,31	±0,24	8,35	±0,22
48	7,81	±0,12	8,12	±0,13	8,29	±0,27

19. sz. táblázat Kefir kultúra élesztőinek szaporodása laktózhidrolizált tejben

Idő (h)	Összes élő élesztő szám					
	lg CFU/cm ³					
	n=4					
	20 °C		25 °C		30 °C	
	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD
0	3,90	±0,13	4,74	±0,18	4,20	±0,31
6	4,40 ^a	±0,15	5,45 ^b	±0,65	6,06 ^c	±0,20
24	6,27	±0,06	7,22 ^b	±0,15	6,74	±0,42
30	6,59 ^a	±0,10	7,70 ^b	±0,15	7,65 ^b	±0,33
48	6,52 ^a	±0,12	7,66 ^b	±0,17	7,36 ^b	±0,27

A különböző betűk ugyanabban a sorban szignifikáns különbségeket jelölnek p<0,001 szinten

20. sz. táblázat A galaktóztartalom változása laktózhidrolizált tejben

Idő (h)	Összes galaktóz tartalom					
	mg/100 cm ³					
	n=4					
	20 °C		25 °C		30 °C	
	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD
0	2372,5	±270,21	2207,5	±117,58	2215,00	± 35,11
6	2045,0	±131,65	2190,0	± 52,91	2027,50	±102,75
24	1984,75 ^a	±163,54	1988,5 ^a	±131,20	1330,25 ^b	± 55,13
30	2019,25 ^a	±113,50	1770,01 ^b	±106,14	1236,75 ^c	± 50,94
48	1806,00 ^a	±146,88	291,83 ^b	± 42,78	231,0 ^b	± 44,77

A különböző betűk ugyanabban a sorban szignifikáns különbségeket jelölnek p<0,001 szinten

21. táblázat Laktózhidrolizált tejből különböző hőfokon készült kefirek érzékszervi bírálatának eredményei

Minták	20 °C	25 °C	30 °C
Bírálok	Rangsorszám		
1.	1	2	3
2.	1	2	3
3.	2	1	3
4.	1	3	2
5.	1	2	3
6.	2	1	3
7.	2	1	3
8.	1	2	3
9.	1	3	2
10.	1	3	2
11.	2	1	3
12.	1	2	3
Rangsorszámok	16 ^a	23 ^a	33 ^b
összege			

A különböző betűkkel jelölt minták $p < 0,01$ szignifikancia szinten különböznek egymástól

22. sz táblázat A D(-) és L(+) tejsav tartalom mennyisége 20 és 25 °C-on fermentált mintákban

Idő (h)	Hőfok °C							
	20 °C				25 °C			
D (-) és L (+) tejsav tartalom g/100cm ³ n=4								
	D (-)-tejsav		L (+)-tejsav		D (-)-tejsav		L (+)-tejsav	
	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD
0	0,009	±0,001	0,009	±0,001	0,009	±0,001	0,008	±0,001
24	0,045	±0,005	0,885	±0,006	0,042	±0,005	0,888	±0,020
30	0,057	±0,009	0,845	±0,014	0,038	±0,006	0,846	±0,004
48	0,085	±0,012	0,840	±0,050	0,042	±0,007	0,836	±0,028

23. táblázat Az összes élő mezofil tejsavbaktériumszám változása a fermentáció során tej-tápszer keverékekben, különböző hőfokokon

Idő (h)	Hőmérséklet											
	20 °C				25 °C				30 °C			
Tej/tápszer keverék típusa												
2LHT:1PR		2LHT:1NU		2LHT:1PR		2LHT:1NU		2LHT:1PR		2LHT:1NU		
Összes mezofil tejsavbaktérium szám logaritmus CFU/cm ³ n=4												
	átla g	SD	átla g	SD	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD
0	6,55	±0,25	6,71	±0,21	5,59	±0,20	6,11	±0,10	5,96	±0,54	7,03	±0,35
6	7,37	±0,29	7,24	±0,27	7,48	±0,79	7,36	±0,48	8,04	±0,15	7,72	±0,52
24	7,51	±0,11	7,39	±0,27	9,76 ^c	±0,01	8,85 ^d	±0,11	8,11 ^e	±0,43	7,46	±0,24
30	6,74	±0,19	6,95	±0,06	8,59 ^c	±0,15	8,71 ^d	±0,01	7,41 ^e	±0,43	7,03	±0,30
48	6,67	±0,21	6,86	±0,10	8,59 ^c	±0,09	8,45 ^d	±0,15	6,99	±0,22	6,81	±0,18

A különböző betűk ugyanabban a sorban szignifikáns különbségeket jelölnek p<0,001 szinten

24. táblázat Az összes élő élesztő számának változása a fermentáció során tej tápszer keverékekben, különböző hőfokokon

Idő (h)	Hőmérséklet											
	20 °C				25 °C				30 °C			
Tej/tápszer keverék típusa												
2LHT:1PR		2LHT:1NU		2LHT:1PR		2LHT:1NU		2LHT:1PR		2LHT:1NU		
Összes élesztő szám logaritmus CFU/cm ³ n=4												
	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD
0	4,43	±0,41	4,18	±0,21	4,80	±0,07	4,76	±0,06	4,40	±0,49	4,37	±0,42
6	6,49	±0,20	5,35	±0,24	5,75	±0,55	5,77	±0,43	5,90	±0,28	5,30	±0,52
24	6,59	±0,20	6,52	±0,27	8,25 ^c	±0,16	7,12 ^d	±0,13	8,10 ^e	±0,43	7,57 ^f	±0,28
30	6,65	±0,20	6,4	±0,12	7,27 ^c	±0,20	7,36 ^d	±0,16	6,64	±0,24	6,52	±0,26
48	6,50	±0,19	6,27	±0,14	7,45 ^c	±0,12	7,24 ^d	±0,28	6,25	±0,23	6,18	±0,30

A különböző betűk ugyanabban a sorban szignifikáns különbségeket jelölnek p<0,001 szinten

25. táblázat A galaktóztartalom változása tej/tápszer keverékekben 20 °C-on

Idő (h)	Tej/tápszer keverék típusa			
	2LHT:1PR		2LHT:1NU	
	Összes galaktóz tartalom mg/100cm ³ n=4			
	átlag	SD	átlag	SD
0	1484,25	±127,35	1352,50	± 91,42
6	1295,25	± 58,40	1339,75	± 39,81
24	1195,75	± 57,95	1287,25	± 93,31
30	1203,00	± 78,38	1073,00	± 86,11
48	117,50 ^a	± 22,24	825,66 ^b	± 73,56

A különböző betűk ugyanabban a sorban szignifikáns különbségeket jelölnek p<0,001 szinten

26. táblázat A galaktóztartalom változása tej/tápszer keverékekben 25 °C-on

Idő (h)	Tej/tápszer keverék típusa			
	2LHT:1PR		2LHT:1NU	
	Összes galaktóz tartalom mg/100cm ³ n=4			
	átlag	SD	átlag	SD
0	1390,00	± 41,63	1370,00	± 14,14
6	1347,50	± 68,00	1247,50	± 26,30
24	935,00	± 30,00	1007,50	± 38,62
30	340,00 ^a	± 18,25	662,50 ^b	± 47,87
48	169,20	± 0,95	171,50	± 2,38

A különböző betűk ugyanabban a sorban szignifikáns különbségeket jelölnek p<0,001 szinten

27. táblázat A galaktóztartalom változása tej/tápszer keverékekben 30 °C-on

Idő (h)	Tej/tápszer keverék típusa			
	2LHT:1PR		2LHT:1NU	
	Összes galaktóz tartalom mg/100cm ³ n=4			
	átlag	SD	átlag	SD
0	1421,25	±107,51	1340,00	± 77,88
6	1342,50	± 30,10	1180,00	± 58,31
24	204,50	± 17,31	163,50	± 4,12
30	185,00	± 10,13	143,50	± 4,12
48	150,00	± 1,63	136,50	± 5,16

28. sz. táblázat Tej/tápszer keverékekből különböző hőfokon készült kefirek érzékszervi bírálatának eredményei

Hőfok	20 °C		25 °C		30 °C	
Bírálok	2LHT:1P	2LHT:1N	2LHT:1P	2LHT:1N	2LHT:1P	2LHT:1NU
	R	U	R	U	R	
	Rangsorszám					
1.	2	1	4	3	6	5
2.	1	2	4	3	6	5
3.	2	1	6	3	5	4
4.	4	2	3	1	6	5
5.	1	3	4	2	5	6
6.	2	1	5	3	6	4
7.	3	2	4	1	6	5
8.	3	1	5	2	6	4
9.	2	3	5	1	6	4
10.	3	2	4	1	5	6
11.	2	1	4	3	6	5
12.	2	1	4	3	6	5
Rangsorszámok	27	20 ^a	52	26	69 ^b	58
összege						

^a: $p < 0,01$ szignifikancia szinten jobb, mint a többi minta

^b: $p < 0,01$ szignifikancia szinten rosszabb, mint a többi minta

29. sz. táblázat D (-)- és L (+)-tejsav mennyiségének alakulása tej tápszer keverékekben 20 °C-on végzett fermentáció esetén

Idő (h)	D (-) és L (+) tejsav tartalom g/100cm ³							
	2LHT:1PR				2LHT:1NU			
	D (-)-tejsav		L (+)-tejsav		D (-)-tejsav		L (+)-tejsav	
	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD
0	0,009	±0,001	0,009	±0,001	0,009	±0,001	0,009	±0,001
24	0,065	±0,017	0,760	±0,025	0,072	±0,009	0,730	±0,030
30	0,102	±0,012	0,730	±0,029	0,080	±0,009	0,730	±0,028
48	0,130	±0,018	0,730 ^b	±0,005	0,120	±0,014	0,700	±0,031

30. sz. táblázat D (-)- és L (+)-tejsav mennyiségének alakulása tej tápszer keverékekben 25 °C-on végzett fermentáció esetén

Idő (h)	D (-) és L (+) tejsav tartalom g/100cm ³ n=4							
	2LHT:1PR				2LHT:1NU			
	D (-)-tejsav		L (+)-tejsav		D (-)-tejsav		L (+)-tejsav	
	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD
0	0,009	±0,001	0,009	±0,001	0,008	±0,001	0,009	±0,001
24	0,062	±0,010	0,727	±0,020	0,083	±0,010	0,718	±0,060
30	0,075	±0,012	0,752	±0,030	0,086	±0,007	0,773	±0,012
48	0,125	±0,017	0,701	±0,006	0,080	±0,009	0,708	±0,008

31. sz. táblázat A glükóztartalom változása laktózhidrolizált tejben 25 °C-on; kétféle kefir kultúra összehasonlítása

Idő (h)	A kefir kultúra típusa			
	KC1		H 047	
	Összes glükóz tartalom mg/100cm ³ n=4			
	átlag	SD	átlag	SD
0	2260,00	± 34,64	2325,00	± 36,96
6	1900,00	± 11,54	1890,00	± 40,82
24	1400,16	± 62,89	1423,33	± 56,79
30	1089,50	± 22,51	1107,50	± 35,00
48	270,00	± 53,00	331,66	± 55,65

A különböző betűk ugyanabban a sorban szignifikáns különbségeket jelölnek p<0,001 szinten

32. sz. táblázat A galaktóztartalom változása laktózhidrolizált tejben 25 °C-on, kétféle kefir kultúrával

Idő (h)	A kefir kultúra típusa			
	KC1		H047	
	Összes galaktóz tartalom mg/100cm ³ n=4			
	átlag	SD	átlag	SD
0	2225,00	± 99,83	2207,50	± 117,58
6	2125,00	± 78,52	2190,00	± 52,91
24	2073,75	±104,50	1988,50	± 131,24
30	1997,50	±127,80	1770,01	± 106,14
48	1212,50 ^a	± 99,12	291,83 ^b	± 42,78

A különböző betűk ugyanabban a sorban szignifikáns különbségeket jelölnek p<0,001 szinten

33 sz táblázat A galaktóz tartalom változása laktózhidrolizált tejben 25 °C-on, kétféle kefir kultúrával végzett fermentáció során, 2 óránkénti mintavétellel

Idő (h)	A kefir kultúra típusa			
	KC1		H047	
	Összes glükóz és galaktóz tartalom mg/100cm ³ n=2			
	glükóz átlag	galaktóz átlag	glükóz átlag	galaktóz átlag
0	2226,00	2225,00	2325,00	2216,25
6	1900,00	2125,00	1890,00	2198,75
24	1400,50	2073,00	1465,00	2150,50
32	1358,50	1980,00	958,50	2100,00
34	1307,00	1971,50	771,50	2047,50
36	1277,50	1946,00	642,50	2023,50
38	1171,50	1924,00	381,50	1874,00
40	1116,00	1868,50	153,50	1769,50
42	837,50	1771,50	71,00	1423,00
44	684,50	1589,50	53,00	1069,50
46	476,00	1455,00	33,00	748,50
48	250,00	1205,00	33,00	334,50

34. táblázat Glükóztartalom változása tej-tápszer keverékekben 25 °C-on

Idő (h)	A kefir kultúra típusa							
	KC1				H047			
	Összes glükóz tartalom mg/100cm ³ n=4							
	2LHT:1PR		2LHT:1NU		2LHT:1PR		2LHT:1NU	
átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD	
0	1437,50	± 15,00	1447,50	± 142,21	1312,50	± 51,23	1395,00	± 26,40
6	957,50	± 66,52	1215,00	± 50,00	1005,00	± 90,37	1200,00	± 98,99
24	375,00 ^a	± 71,41	697,50 ^b	± 49,24	432,50 ^c	± 69,46	712,50 ^d	± 47,87
30	150,00 ^a	± 18,25	517,50 ^b	± 26,30	262,50 ^c	± 45,73	507,50 ^d	± 58,52
48	3,00 ^a	± 2,44	12,50 ^b	± 6,45	4,00 ^c	± 3,10	10,50 ^d	± 3,87

A különböző betűk ugyanabban a sorban szignifikáns különbségeket jelölnek p<0,001 szinten

35.sz.táblázat A galaktóztartalom változása tej tápszer keverékekben 25 °C-on

Idő (h)	A kefir kultúra típusa							
	KC1				H047			
	Összes galaktóz tartalom mg/100cm ³							
	n=4							
	2LHT:1PR		2LHT:1NU		2LHT:1PR		2LHT:1NU	
	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD	átlag	SD
0	1427,50	± 54,39	1352,50	± 91,42	1390,00	± 41,63	1370,00	± 14,14
6	1375,00	± 47,95	1329,75	± 75,80	1347,50	± 68,00	1247,50	± 26,30
24	1112,25	± 42,99	1209,00	± 95,39	935,00	± 30,00	1007,50	± 38,62
30	738,75 ^a	± 55,45	1052,75 ^b	± 78,08	340,00 ^c	± 18,25	662,50 ^d	± 47,87
48	153,25	± 7,18	157,25	± 20,85	169,20	± 0,95	171,50	± 2,38

A különböző betűk ugyanabban a sorban szignifikáns különbségeket jelölnek p<0,001 szinten

36. sz. táblázat Laktózhidrolizált tejből, tej-tápszer keverékekből két különböző kefir kultúrával fermentált kefir jellegű termékek érzékszervi bírálatának eredményei

Minták	KC1			H047		
	LHT	2LHT:1PR	2LHT:1NU	LHT	2LHT:1PR	2LHT:1NU
1.	1	5	3	2	6	4
2.	1	5	4	2	6	3
3.	2	6	5	1	4	3
4.	1	4	5	2	6	3
5.	2	5	3	1	6	4
6.	1	5	3	2	6	4
7.	1	5	3	2	6	4
8.	1	6	4	2	5	3
9.	2	6	5	1	4	3
10.	1	5	3	2	6	4
11.	1	5	3	2	6	4
12.	2	4	3	1	6	5
Rangsorszámok	16 ^a	61 ^b	44 ^c	20 ^a	67 ^b	44 ^c
összege						

A különböző betűkkel jelölt minták p<0,01 szignifikancia szinten különböznek egymástól