

## **LACTOBACILLUS PLANTARUM ÉS ENTEROCOCCUS FAECIUM SZAPORODÁSÁNAK VALAMINT SAVTERMELÉSÉNEK SERKENTÉSE TEJBE, SZÁRÍTOTT CHLORELLA ÉS ARTHROSPIRA (SPIRULINA) BIOMASSZA FELHASZNÁLÁSÁVAL**

**GYENIS B. – SZIGETI J. – MOLNÁR N. – VARGA L.**

Nyugat-Magyarországi Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszer-tudományi Kar  
Élelmiszer-tudományi Intézet – 9200 Mosonmagyaróvár, Lucsony u. 15-17.

### **Összefoglalás**

A mikroalgák fotoszintetizáló szervezetek, amelyek számos értékes vegyület előállítására képesek. A *Chlorella* és az *Arthrospira* (*Spirulina*) mikroalga-fajok kereskedelmi célú termesztése közel négy évtizedes múltra tekint vissza. Kísérleteink során porlasztva szárított, 3 g/L koncentrációban alkalmazott *A. platensis* ill. *C. vulgaris* biomasszájának takarmányfermentálásra használt *Lactobacillus plantarum* és *Enterococcus faecium* törzsek szaporodására és savtermelésére gyakorolt hatását teszteltük 12-30% szárazanyag-tartalmú modell tej-tápközegekben. A kapott eredmények azt mutatták, hogy az *A. platensis* és a *C. vulgaris* szárított biomasszájának adagolása is szignifikáns mértékben ( $P < 0,05$ ) serkentette mind a *L. plantarum*, mind az *E. faecium* szaporodási sebességét és savtermelő aktivitását, az összes alkalmazott tápközegben; a tej-tápközegek szárazanyag-tartalma viszont nem befolyásolta a vizsgált startertörzsek szaporodási és savtermelési mutatóit. Összefoglalásképpen megállapítható, hogy a bioaktív komponensekben gazdag, szárított *Chlorella* és *Arthrospira* biomassza alkalmas funkcionális hatású, fermentált, tejalapú takarmányok gazdaságos előállítására.

### **Bevezetés**

A mikroalgák különféle értékes vegyületek előállítására képes fotoszintetizáló mikroszervezetek. Szárított biomasszájuk átlagosan 3-7% nedvességet, 46-63% fehérjét, 8-17% szénhidrátot, 4-22% lipidet, 2-4% nukleinsavat, 7-10% ásványi anyagot, 8-10% rostot és számos vitamint valamint egyéb bioaktív anyagot tartalmaz. A *Chlorella* és az *Arthrospira* (*Spirulina*) mikroalga-fajok kereskedelmi célú termesztése mintegy négy évtizeddel ezelőtt vette kezdetét (Borowitzka, 1999). Az előállított biomassza döntő mennyisége emberi fogyasztás célját szolgálja, jellemzően egészségmegőrző élelmiszerként értékesül. A *Chlorella vulgaris* asztaxantin, kantaxantin,  $\beta$ -karotin és lutein termelő zöldalga-faj, míg az *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* számottevő  $\gamma$ -linolénsav szintetizáló képességéről nevezetes cianobaktérium (prokariota alga).

Varga és mtsai (1999) megállapítása szerint a szárított *A. platensis* biomassza adalék szignifikáns mértékben serkenti egyes termofil tejipari színtenyészetek (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*) savtermelő aktivitását és szaporodási sebességét, ezért célszerűen alkalmazható új típusú funkcionális savanyú tejtermékek gazdaságos előállítására. Ennek alapján, kísérleteink során, porlasztva szárított mikroalga biomasszáknak takarmányfermentálásra használt *Lactobacillus plantarum* és *Enterococcus faecium* törzsek szaporodására és savtermelésére gyakorolt hatását teszteltük különböző szárazanyag-tartalmú modell tej-tápközegekben.

## Vizsgálati anyagok és módszerek

A sovány tejporból és desztillált vízből előállított 12%, 18%, 24% és 30% szárazanyag-tartalmú alapanyag-tejeket 90°C-on 10 percig hőkezeltük, majd 32°C-ra visszahűtöttük.

A fagyasztva szárított *L. plantarum* és *E. faecium* startertörzseket a Nyugat-Magyarországi Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszer-tudományi Karának Takarmányozástani Tanszéke bocsátotta rendelkezésünkre. A kísérletek megkezdése előtt a törzseket két alkalommal, 24 óra hosszat előszaporítottuk az alábbiak szerint: a *L. plantarum*ot MRS táplevesben és MRS agaron 30°C-on, az *E. faecium*ot pedig TSB táplevesben és SB agaron 37°C-on.

A kísérleteinkhez felhasznált *A. platensis* és *C. vulgaris* biomassa Németországból, a Bergholz-Rehbrücke-i Gabonakutató Intézetből származott. A mikroalga portermékek 3 g/L mennyiségben történő felhasználásának gondolata egy korábbi munkánkból (Springer és mtsai, 1998) származott, amelyben meghatároztuk, hogy mekkora a már hatékony és gazdaságossági ill. érzékszervi szempontból még tolerálható biomassa-koncentráció

A hőkezelt, majd inkubációs hőfok közelébe visszahűtött vizsgálati (mikroalgával kiegészített) és kontroll alapanyagokat beoltottuk 1%-nyi *L. plantarum* vagy *E. faecium* szintenyéssel, és rendre 30°C-on ill. 37°C-on inkubáltuk őket. A fermentáció folyamán minden egyes vizsgálati időpontban megmértük 3-3 párhuzamos minta pH-értékét egy HANNA 8521 típusú laboratóriumi digitális pH-mérővel, kombinált üvegelektroda alkalmazásával. Hasonlóképpen végeztünk lemezöntéses élősejt-szám meghatározásokat is. Kísérleteinket két ismétléssel hajtottuk végre.

A mikroalga biomasszáknak *L. plantarum* és *E. faecium* fermentáció alatti szaporodására és savtermelésére gyakorolt hatását a STATISTICA adatelemző programcsomag (StatSoft, 2001) *t*-próbájának segítségével vizsgáltuk, 95%-os szignifikancia szinten.

## Eredmények és értékelésük

Az elvégzett vizsgálatok során kapott eredmények egy részét az **1.-10. táblázatokban** tüntettük fel. Világosan látszik, hogy az *A. platensis* és a *C. vulgaris* szárított biomasszájának adagolása is szignifikáns mértékben ( $P < 0,05$ ) serkentette mind a *L. plantarum*, mind az *E. faecium* szaporodási sebességét és savtermelő aktivitását az összes alkalmazott tápközegben.

**1. táblázat** 3 g/L *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* biomassa hatása *Lactobacillus plantarum* savtermelésére<sup>1</sup> 30% szárazanyag-tartalmú tej-tápközegben

Idő (óra)	Kontroll	<i>Arthrospirával</i> kiegészített
0	6,47 <sup>a</sup>	6,47 <sup>a</sup>
10	5,95 <sup>a</sup>	5,74 <sup>b</sup>
12	5,83 <sup>a</sup>	5,55 <sup>b</sup>
14	5,70 <sup>a</sup>	5,41 <sup>b</sup>
17	5,50 <sup>a</sup>	5,23 <sup>b</sup>
20	5,42 <sup>a</sup>	5,15 <sup>b</sup>
22	5,34 <sup>a</sup>	5,10 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>Az egyazon sorban szereplő, eltérő betűjelzésű átlagok szignifikánsan eltérnek egymástól ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup>Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos × 2 ismétlés) pH-átlagát jelölik.

Gyenis, B., Szigeti, J., Molnár, N. & Varga, L. (2004) *Lactobacillus plantarum* és *Enterococcus faecium* szaporodásának valamint savtermelésének serkentése tejben, szárított *Chlorella* és *Arthrospira* (*Spirulina*) biomassza felhasználásával. XXX. Óvári Tudományos Napok "Agrártermelés – harmóniában a természettel". Az előadások és poszterek teljes terjedelemben megjelent anyagai. Nyugat-magyarországi Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszer-tudományi Kar, Mosonmagyaróvár, Compact Disc, 5 pp. [ISSN: 0237-9902]

**2. táblázat** 3 g/L *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* biomassza hatása *Lactobacillus plantarum* savtermelésére<sup>1</sup> 24% szárazanyag-tartalmú tej-tápközegben

Idő (óra)	Kontroll	<i>Arthrospirával</i> kiegészített
0	6,35 <sup>b</sup>	6,47 <sup>a</sup>
10	5,94 <sup>a</sup>	5,55 <sup>b</sup>
12	5,75 <sup>a</sup>	5,31 <sup>b</sup>
14	5,61 <sup>a</sup>	5,16 <sup>b</sup>
17	5,47 <sup>a</sup>	5,02 <sup>b</sup>
20	5,34 <sup>a</sup>	4,94 <sup>b</sup>
22	5,29 <sup>a</sup>	4,86 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>Az egyazon sorban szereplő, eltérő betűjelzésű átlagok szignifikánsan eltérnek egymástól ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup>Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos  $\times$  2 ismétlés) pH-átlagát jelölik.

**3. táblázat** 3 g/L *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* biomassza hatása *Lactobacillus plantarum* savtermelésére<sup>1</sup> 18% szárazanyag-tartalmú tej-tápközegben

Idő (óra)	Kontroll	<i>Arthrospirával</i> kiegészített
0	6,47 <sup>a</sup>	6,47 <sup>a</sup>
10	5,93 <sup>a</sup>	5,54 <sup>b</sup>
12	5,76 <sup>a</sup>	5,32 <sup>b</sup>
14	5,60 <sup>a</sup>	5,17 <sup>b</sup>
17	5,38 <sup>a</sup>	5,00 <sup>b</sup>
20	5,29 <sup>a</sup>	4,93 <sup>b</sup>
22	5,20 <sup>a</sup>	4,85 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>Az egyazon sorban szereplő, eltérő betűjelzésű átlagok szignifikánsan eltérnek egymástól ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup>Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos  $\times$  2 ismétlés) pH-átlagát jelölik.

**4. táblázat** 3 g/L *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* biomassza hatása *Lactobacillus plantarum* savtermelésére<sup>1</sup> 12% szárazanyag-tartalmú tej-tápközegben

Idő (óra)	Kontroll	<i>Arthrospirával</i> kiegészített
0	6,35 <sup>b</sup>	6,48 <sup>a</sup>
10	5,92 <sup>a</sup>	5,37 <sup>b</sup>
12	5,73 <sup>a</sup>	5,09 <sup>b</sup>
14	5,55 <sup>a</sup>	4,95 <sup>b</sup>
17	5,40 <sup>a</sup>	4,81 <sup>b</sup>
20	5,24 <sup>a</sup>	4,71 <sup>b</sup>
22	5,15 <sup>a</sup>	4,62 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>Az egyazon sorban szereplő, eltérő betűjelzésű átlagok szignifikánsan eltérnek egymástól ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup>Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos  $\times$  2 ismétlés) pH-átlagát jelölik.

**5. táblázat** 3 g/L *Chlorella vulgaris* biomassza hatása *Enterococcus faecium* savtermelésére<sup>1</sup> 30% szárazanyag-tartalmú tej-tápközegben

Idő (óra)	Kontroll	<i>Chlorellával</i> kiegészített
0	6,31 <sup>a</sup>	6,31 <sup>a</sup>
10	5,84 <sup>a</sup>	5,23 <sup>b</sup>
12	5,64 <sup>a</sup>	4,89 <sup>b</sup>
14	5,43 <sup>a</sup>	4,55 <sup>b</sup>
17	5,39 <sup>a</sup>	4,52 <sup>b</sup>
20	5,21 <sup>a</sup>	4,51 <sup>b</sup>
22	5,15 <sup>a</sup>	4,49 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>Az egyazon sorban szereplő, eltérő betűjelzésű átlagok szignifikánsan eltérnek egymástól ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup>Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos  $\times$  2 ismétlés) pH-átlagát jelölik.

Gyenis, B., Szigeti, J., Molnár, N. & Varga, L. (2004) *Lactobacillus plantarum* és *Enterococcus faecium* szaporodásának valamint savtermelésének serkentése tejben, szárított *Chlorella* és *Arthrospira* (*Spirulina*) biomassza felhasználásával. XXX. Óvári Tudományos Napok "Agrártermelés – harmóniában a természettel". Az előadások és poszterek teljes terjedelemben megjelent anyagai. Nyugat-magyarországi Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszer-tudományi Kar, Mosonmagyaróvár, Compact Disc, 5 pp. [ISSN: 0237-9902]

**6. táblázat** 3 g/L *Chlorella vulgaris* biomassza hatása *Enterococcus faecium* savtermelésére<sup>1</sup> 24% szárazanyag-tartalmú tej-tápközegben

Idő (óra)	Kontroll	<i>Chlorellával</i> kiegészített
0	6,34 <sup>a</sup>	6,34 <sup>a</sup>
10	5,95 <sup>a</sup>	5,15 <sup>b</sup>
12	5,83 <sup>a</sup>	4,91 <sup>b</sup>
14	5,70 <sup>a</sup>	4,50 <sup>b</sup>
17	5,41 <sup>a</sup>	4,19 <sup>b</sup>
20	5,14 <sup>a</sup>	4,07 <sup>b</sup>
22	5,06 <sup>a</sup>	3,92 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>Az egyazon sorban szereplő, eltérő betűjelzésű átlagok szignifikánsan eltérnek egymástól ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup>Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos  $\times$  2 ismétlés) pH-átlagát jelölik.

**7. táblázat** 3 g/L *Chlorella vulgaris* biomassza hatása *Enterococcus faecium* savtermelésére<sup>1</sup> 18% szárazanyag-tartalmú tej-tápközegben

Idő (óra)	Kontroll	<i>Chlorellával</i> kiegészített
0	6,33 <sup>a</sup>	6,33 <sup>a</sup>
10	6,06 <sup>a</sup>	5,20 <sup>b</sup>
12	5,80 <sup>a</sup>	4,92 <sup>b</sup>
14	5,42 <sup>a</sup>	4,55 <sup>b</sup>
17	5,36 <sup>a</sup>	4,48 <sup>b</sup>
20	5,14 <sup>a</sup>	4,16 <sup>b</sup>
22	5,08 <sup>a</sup>	4,06 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>Az egyazon sorban szereplő, eltérő betűjelzésű átlagok szignifikánsan eltérnek egymástól ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup>Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos  $\times$  2 ismétlés) pH-átlagát jelölik.

**8. táblázat** 3 g/L *Chlorella vulgaris* biomassza hatása *Enterococcus faecium* savtermelésére<sup>1</sup> 12% szárazanyag-tartalmú tej-tápközegben

Idő (óra)	Kontroll	<i>Chlorellával</i> kiegészített
0	6,31 <sup>a</sup>	6,31 <sup>a</sup>
10	6,13 <sup>a</sup>	5,64 <sup>b</sup>
12	5,76 <sup>a</sup>	5,37 <sup>b</sup>
14	5,40 <sup>a</sup>	5,04 <sup>b</sup>
17	5,32 <sup>a</sup>	4,44 <sup>b</sup>
20	5,13 <sup>a</sup>	4,10 <sup>b</sup>
22	5,07 <sup>a</sup>	4,04 <sup>b</sup>

<sup>a,b</sup>Az egyazon sorban szereplő, eltérő betűjelzésű átlagok szignifikánsan eltérnek egymástól ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup>Az adatok 6 mérés (3 párhuzamos  $\times$  2 ismétlés) pH-átlagát jelölik.

**9. táblázat** 3 g/L *Chlorella vulgaris* biomassza hatása *Lactobacillus plantarum* szaporodására<sup>1</sup> 12% szárazanyag-tartalmú tej-tápközegben

Idő (óra)	Kontroll	<i>Chlorellával</i> kiegészített
0	6,78 <sup>a</sup>	6,88 <sup>a</sup>
8	8,18 <sup>b</sup>	8,52 <sup>a</sup>
12	8,31 <sup>b</sup>	8,92 <sup>a</sup>
22	8,61 <sup>b</sup>	8,98 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup>Az egyazon sorban szereplő, eltérő betűjelzésű átlagok szignifikánsan eltérnek egymástól ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup>Az adatok 6 vizsgálat (3 párhuzamos  $\times$  2 ismétlés) log cfu/mL-átlagát jelölik.

Gyenis, B., Szigeti, J., Molnár, N. & Varga, L. (2004) *Lactobacillus plantarum* és *Enterococcus faecium* szaporodásának valamint savtermelésének serkentése tejben, szárított *Chlorella* és *Arthrospira* (*Spirulina*) biomassa felhasználásával. XXX. Óvári Tudományos Napok "Agrártermelés – harmóniában a természettel". Az előadások és poszterek teljes terjedelemben megjelent anyagai. Nyugat-magyarországi Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszer-tudományi Kar, Mosonmagyaróvár, Compact Disc, 5 pp. [ISSN: 0237-9902]

**10. táblázat** 3 g/L *Chlorella vulgaris* biomassa hatása *Enterococcus faecium* szaporodására<sup>1</sup> 12% szárazanyag-tartalmú tej-tápközegben

Idő (óra)	Kontroll	<i>Chlorellával</i> kiegészített
0	6,83 <sup>a</sup>	6,93 <sup>a</sup>
8	8,26 <sup>b</sup>	8,66 <sup>a</sup>
12	8,41 <sup>b</sup>	8,96 <sup>a</sup>
22	8,72 <sup>b</sup>	9,08 <sup>a</sup>

<sup>a,b</sup>Az egyazon sorban szereplő, eltérő betűjelzésű átlagok szignifikánsan eltérnek egymástól ( $P < 0,05$ ).

<sup>1</sup>Az adatok 6 vizsgálat (3 párhuzamos  $\times$  2 ismétlés) log cfu/mL-átlagát jelölik.

A kapott eredmények összhangban vannak egy korábbi tanulmányban közöltekkel, miszerint a szárított *A. platensis* biomassa adalék szignifikáns mértékben serkenti egyes tejsavtermelő szintenyészetek savtermelő aktivitását, valamint szaporodási sebességét, és e tulajdonsága döntő részben nitrogéntartalmú anyagok (szabad aminosavak, hipoxantin, adenin) jelenlétére vezethető vissza (Varga és mtsai, 1999). Vizsgálataink bebizonyították továbbá, hogy a tej-tápközégek szárazanyag-tartalma nem befolyásolja a startertörzsek szaporodási és savtermelési mutatóit a fermentáció során.

Összefoglalásképpen megállapítható, hogy a bioaktív komponensekben gazdag, szárított *Chlorella* és *Arthrospira* biomassa potenciálisan alkalmas funkcionális hatású, fermentált, tejalapú takarmányok gazdaságos előállítására.

## Köszönetnyilvánítás

A kutatás megvalósulását az Oktatási Minisztérium a Felsőoktatási Kutatási és Fejlesztési Pályázat (FKFP – 0197/2001) keretében támogatta. Varga László köszönetét fejezi ki a Magyar Tudományos Akadémiának, hogy munkáját Bolyai János Kutatási ösztöndíjjal segítette.

## Irodalomjegyzék

- Borowitzka, M. A. 1999. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology* **70** 313–321.
- Springer, M., Pulz, O., Szigeti, J., Ördög, V. & Varga, L. 1998. Verfahren zur Herstellung von biologisch hochwertigen Sauermilcherzeugnissen. European Patent No. DE 19,654,614,A1.
- StatSoft. 2001. STATISTICA Data Analysis Software System. Version 6. StatSoft Inc., Tulsa, OK.
- Varga, L., Szigeti, J. & Ördög, V. 1999. Effect of a *Spirulina platensis* biomass and that of its active components on single strains of dairy starter cultures. *Milchwissenschaft* **54** 187–190.