

ELJÁRÁS ÉLELMISZER-FERMENTÁLÓ ANYAGOK ELŐÁLLÍTÁSÁRA

KIVONAT

A találmány tárgya eljárás élelmiszer-fermentáló anyagok előállítására, amely eljárás abban áll, hogy tejsavbaktériumokat legalább egy fermentáció-aktivátor szacharidot tartalmazó tápközegben tenyésztenek, fermentáció-aktivátorként maltodextrineket, elágazó láncú maltodextrineket, oldható keményítőket, oligoszacharidokat vagy ezek elegyeit alkalmazzák.

A találmány tárgyát képezi továbbá egy az élelmiszer fermentáló szerek tartósítására szolgáló eljárás, amely abban áll, hogy legalább egy fermentáció-aktivátor szacharidot alkalmaznak, amely a maltodextrinek, elágazó láncú maltodextrinek, oldható keményítők, oligoszacharidok és ezek elegyei körébe tartozó. A találmány tárgyát képezi még a fenti fermentáló anyagokkal történő élelmiszer fermentálási eljárás, valamint az annak eredményeként kapott élelmiszer készítmény is.

Rejz

h/

ELJÁRÁS ÉLELMISZER-FERMENTÁLÓ ANYAGOK ELŐÁLLÍTÁSÁRA

A találmány tárgya eljárás élelmiszer-fermentáló anyagok előállítására tejsavbaktériumok olyan tápközegben való tenyésztésével, amely egy sajátos szacharidot tartalmaz fermentáció-aktivátorként. A találmány tárgyát képezi még élelmiszer-fermentáló anyagok tartósítása is a fenti sajátos szacharid alkalmazásával. Azok az élelmiszer-fermentáló anyagok, amelyekre a találmány vonatkozik Gram-pozitív baktériumok, ezek közé tartoznak a tejsavbaktériumok, amelyekre a nagy mennyiségű tejsav termelés jellemző, valamint a bifidusz baktériumok, amelyek hasonlóak a tejsavbaktériumokhoz, jellemzőjük a vegyes tejsavas és ecetsavas fermentálás.

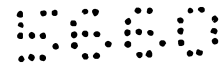
A találmány háttere

A tejsavbaktériumok körébe tartoznak az alábbi nemzetségek: Lactobacillus, Lactococcus, Streptococcus, Enterococcus, Leuconostoc és Pediococcus. A bifidusz baktériumokat a Bifidobaktérium nemzetség képviseli.

Ezek a baktériumok más mikroorganizmusokkal együtt általában megtalálhatók számos természetes úton fermentálódott állati és növényi termékben: fermentált tejtermékekben (sajtok, joghurtok), fermentált húsokban (virsli, sonka), gyümölcs alapú alkoholos italokban (borok, almaborok, sörök), fermentált gyümölcsökben és zöldségekben (savanyúkáposzta, olíva, savanyúuborka), fermentált gabonafélékben (különféle fajta kenyerek) és fermentált állattápban (silótakarmány).

Ezeket a baktériumokat, amelyek közös néven „élelmiszer-fermentáló anyagokként” ismeretesek, táplálkozási szempontból a leginkább szükséges baktérium csoportok egyikének tekintjük [La technique laitière 979. . 41-47 1983)]

A tejsavbaktériumok régóta széles körben elterjedtek tej-, hús-, hal-, zöldség- és gyümölcsalapú élelmiszerek tartósítására. A fermentáló anyagok ké-



szítésénél a legjelentősebb innováció a fagyasztott állapotú koncentrált fermentáló anyagok bevezetése volt, és röviddel ezután a liofilizált (fagyasztva-száritott) forma bevezetése. Ezek a koncentrált fermentáló anyagok nagymértékben leegyszerűsítik a felhasználó munkáját, és kedveznek az állandóbb gyártásnak.

A tejsavas fermentáló anyagok ipari előállítására felhasználandó tápközeg jellemzői nagy mértékben befolyásolják a termék végső aktivitását. A tejsavbaktériumok tápigényén túlmenően a tápközegnek lehetővé kell tennie, hogy jó hozammal koncentrált biomassa jöjjön létre. A tápigényeket kielégíthetjük, ha a mikroorganizmust egy vagy több nitrogénforrással, szénforrással, vitaminokkal, ásványi anyagokkal és bizonyos esetekben zsírsavakkal, nitrogéntartalmú bázisokkal és szerves savakkal látjuk el. Általában ajánlatos, hogy a széntartalmú szubsztrát azonos legyen azzal, amelyet az a tápközeg fog tartalmazni, amelyben a fermentáló anyagot fel kívánjuk használni. Gyakran előnyös a fermentáló anyag jó végső aktivitásának elérése érdekében, ha diszacharidokat, például laktózt, szacharózt (szukrózt) vagy maltózt alkalmazunk.

A találmány összегzése

E kérdéssel foglalkozva arra a felismerésre jutottunk, hogy az élelmiszer-fermentáló anyagok előállítási eljárása során bizonyos szacharidok családjának alkalmazása esetén meglepő és nem várt módon a fermentáló anyag szaporodását stimuláló hatást és ezzel együttjáróan a tápközeg savanyodási sebességének növekedését észleltük. Ez különösen meglepő, mivel ismert, hogy az alacsony molekulatömegű szénforrások, például a laktóz különösen előnyösen metabolizálhatók a tejsavbaktériumok által.

A találmány részletes leírása

A fentieknek megfelelően a találmány tárgya eljárás élelmiszer-fermentáló anyagok előállítására, amely abban áll, hogy tejsavbaktériumokat olyan tápközegben fermentálunk, amely legalább egy a maltodextrinek, elágazó láncú



maltodextrinek, oldható keményítők és oligoszacharidok vagy ezek elegyei körébe tartozó fermentáció-aktivátor szacharidot tartalmaz. A találmány szerinti eljárás egy előnyös változata szerint a fenti fermentáció-aktivátor az elágazó láncú maltodextrinek, oldható keményítők és oligoszacharidok vagy ezek elegyei körébe tartozó. A találmány szerinti eljárás egy további előnyös változata szerint a fermentáció-aktivátor az oldható keményítők és/vagy elágazó láncú maltodextrinek körébe tartozó.

A fermentációs eljárás mind in vitro, mind in vivo megvalósítható. Így a találmány szerinti szacharid fermentáció-aktivátor elősegítheti a humán vagy állati tejsav flóra in vivo szaporodását.

„Maltodextrineken” keményítőből klasszikus savas és/vagy enzimes hidrolízissel nyert szokásos maltodextrineket értünk, amelyekre dextróz egyenértékben (DE.) kifejezve 20 alatti értékű redukáló erő jellemző.

„Elágazó láncú maltodextrineken” az FR-A-2 786 725 számú szabadalmi leírásban ismertetett maltodextrineket értjük (az említett szabadalom bejelentője Roquette Freres, Lestrem, Franciaország). Ezekre a maltodextrinekre az jellemző, hogy 1→6 glükózidos kötéseik száma nagyobb, mint a szokásos maltodextrinéké. Ezek mintegy 15-35 % 1→6 glükózidos kötést tartalmaznak, redukálócukor-tartalmuk 20% alatti, polimolekularitási indexük 5 alatti, és szám szerinti átlagos molekula tömegük (M_n) legfeljebb 4500 g/mol. Ezek a maltodextrinek hidrogénezettek is lehetnek.

Az „oldható keményítők” megjelölésen bármely eredetű, fizikailag vagy kémiai módon módosított keményítőt is értünk, amely vízben szobahőmérsékleten oldódásra képes.

Az „oligoszacharidok” megjelölésen különösen frukto-oligoszacharidokat, izomalto-oligoszacharidokat, malto-oligoszacharidokat, galakto-oligoszacharidokat, xilo-oligoszacharidokat, palatinóz-oligozidokat, laktulózt, raffinózt és laktoszukrózt értünk.



Előnyösen ahhoz, hogy a fermentáló anyagok előállítása során a kívánt stimuláló hatást elérjük, a találmány szerinti eljárásban az aktivátor-szacharidot a tápközegben legalább 0,1 % koncentrációban alkalmazzuk.

A találmány szerinti eljárás egy előnyös változata szerint a fermentálást a *Lactobacillus delbrueckii* sp. *bulgaricus* és/vagy *Streptococcus thermophilus* tejsavbaktériumok alkalmazásával végezzük.

A találmány szerinti eljárásban alkalmazott tápközeg előnyösen 0,1-30 tömeg%, előnyösebben 0,1-25 tömeg%, még előnyösebben 0,5-15 tömeg% mennyiségben tartalmaz legalább egy fermentáció-aktivátor szacharidot, amely maltodextrin, elágazó láncú maltodextrin, oldható keményítő és oligoszacharid lehet önmagában vagy az előbbiek valamely elegye formájában.

A találmány szerinti eljárást előnyösen alkalmazhatjuk élelmiszerek fermentálással való átalakítására, különösen fermentált tej és más tejtermékek előállítására, mivel a szacharid aktivátor – amely nem metabolizálódik teljesen a fermentáló anyagok révén – előnyös reológiai és táplálkozási jellemzőket nyújt a végterméknek. Valójában arra a felismerésre jutottunk, hogy ha a találmány szerinti eljárást tejtermékek előállítására alkalmazzuk, nem csak a fermentáció sebességét növeljük, hanem a termék végső textúráját is javítjuk. Továbbá, ha az aktivátor szacharidot az olyan oligoszacharidok köréből választjuk, amelyek oldható rostot tartalmaznak, ez utóbbi előnyösen járul hozzá a végtermék bifidogén jellemzőjéhez, és az oldható rost ellátást szolgálja.

A találmány szerinti eljárás az élelmiszerek előállításához hasonlóan egyaránt jól alkalmazható állattápok, különösen silótakarmány előállítására.

A fentieknek megfelelően a találmány tárgyát képezi fermentált élelmiszer készítmények előállítása is, amely abban áll, hogy az előállítási eljárás legalább egy lépésében alkalmazzuk a találmány szerinti élelmiszer-fermentáló anyag előállítási eljárást.



A találmány tárgyát képezi továbbá élelmiszer-fermentáló anyagok tartósítására szolgáló eljárás, amely abban áll, hogy legalább egy fermentáció-aktivátor szacharidot alkalmazunk, amely a maltodextrinek, elágazó láncú maltodextrinek, oldható keményítők és oliszacharidok vagy ezek elegyei körébe tartozó. Valójában arra a felismerésre jutottunk, hogy az aktivátor-szacharid biztosítja, hogy a baktériumok a tárolás során kielégítő életképességgel bírjanak. Így az aktivátor-szacharidot előnyösen alkalmazhatjuk a fermentáló anyagok szárítással, porlasztással, fagyasztással és liofilezéssel (fagyasztva-szárítással) való tartósításának elősegítésére. Így ez az anyag ismét betöltheti fermentáció-aktivátor szerepét, ha a fermentáló anyagot ismét oldatba visszük.

A találmány további előnyei a következő példákból válnak nyilvánvalóvá, a példák nem korlátozó jellegűek.

1. Példa

Fermentált tejhez való alkalmazás

Fermentált tejet készítünk hagyományos tejsavas fermentáló anyagokkal (*Lactobacillus delbrueckii* sp. *bulgaricus* és *Streptococcus thermophilus*), és a fermentálást követően mérjük a tápközeg inkubálási időszak során bekövetkező impedancia változását (BACTOMETER®, BIOMERIEUX), valamint a mikroorganizmus populációt áramlásos citometriával (CHEMFLOW®, CHEMUNEX) mennyiségileg és minőségileg meghatározzuk. A

BACTOMETER® rendszer olyan mikroorganizmus kimutató rendszer, amely gyors, megbízható és érzékeny, teljes egészében automatizált, impedancia mérés révén a mikrobiológiai elveken alapuló. Oly módon tervezett, hogy kimutassa a szaporodó mikroorganizmusok metabolikus aktivitásából származó impedancia változásokat. Egy adott mintában a mért detektálási idő a szaporodási kinetika, a látencia idő és a mikroorganizmus koncentráció egyidejű függvénye. Az eredményeket DT (detektálási idő) egységekben fejezzük ki. A különféle



szacharidok tejsavas fermentáló anyagok szaporodására gyakorolt hatását vizsgáljuk.

A szaporító tápközeg 1 ml térfogatú, 9 % tejet, 10 % szacharózt (szukrózt) és/vagy 10 % vizsgálandó szacharidot tartalmaz. A tejet tejpornak steril vízben való rehidratálásával nyerjük, és a kapott tejet nem pasztőrözzük. A vizsgálandó szacharidokat szűrővel sterilizzük.

A tejsavas fermentáló anyagból steril vízben 2×10^6 CFU/ml tej közeg kezdeti szuszpenziót készítünk (CFU = telepképző egység). Az inkubálást 44 °C hőmérsékleten végezzük 24 órán át. A közeg impedancia változását folytonosan mérjük, és % változássá alakítva adjuk meg.

Eredményeinket a következő táblázatban mutatjuk be.

Szacharid	Koncentráció (%)	Detektálási idő (óra)
Nincs	10	4,6
Szacharóz (szukróz)	10	4,6
Glükóz	10	14,8
GLUCIDEX® 47	10	4,2
GLUCIDEX® 21	10	3,8
GLUCIDEX® 6	10	3,3
Oldható keményítő*	10	3,4
Galakto-oligoszacharidok**	10	4,1
Izomalto-oligoszacharidok***	10	4,1
Frukto-oligoszacharidok****	10	3,8
Elágazó láncú maltodextrinek	10	4,1

A GLUCIDEX® termékek szokásos maltodextrinek, forgalmazójuk a Roquette Freres (Lestrem, Franciaország).



* Az oldható keményítő savas hidrolízissel nyert keményítő, amelyet a MERCK cég forgalmaz 1.01252 referencia számon.

** Galakto-oligoszacharidok: Cup Oligo P® - Nisshin Seito

*** Izomalto-oligoszacharidok: Isomalt®900P – Showa Sangyo

**** Frukto-oligoszacharidok: Actilight®950P – Beghin-Meiji

Elágazó láncú maltodextrinek: 15-35 % 1→6 glükózidos kötést tartalmazó, 2-5 % redukálócukor-tartalmú és 2000 és 3000 g/mól közötti szám szerinti átlagos molekulatömegű (Mn) maltodextrin.

Eredményeink azt mutatják, hogy a találmány szerinti aktivátor szacharidok jótékony hatása nem kapcsolatos az ozmózis nyomás csökkentésével, mivel a detekciós idő azonos a tej laktózán kívül egyéb szacharidot nem tartalmazó kontrolléval. A detekciós idő csökkenése a látencia idő csökkenésének felel meg, amelyet azokban a vizsgálatokban észleltünk, amelyeknél szacharóz (szukróz) helyett sajátosan maltodextrineket (GLUCIDEX®), oldható keményítőt, elágazó láncú maltodextrineket és frukto-oligoszacharidokat alkalmaztunk.

2. Példa

Baktérium koncentráció meghatározása

A tejsavas fermentáló anyagokat az előző példában leírt tápközegen alkalmazzuk [9 % tej, 10 % szacharóz (szukróz) vagy 10 % szacharid aktivátor]. Az inkubálást 44 °C hőmérsékleten végezzük 2 literes reaktorban, és nyomonkövetjük a savanyodási kinetikát. A fermentáció során mintákat veszünk, amelyekből meghatározzuk az össz-baktérium koncentrációt, és a populáció életképességét, a vizsgálatához CHEMFLOW elemző berendezést alkalmazunk. A fermentációt a pH = 4 érték elérésekor leállítjuk. Az alábbi táblázatban bemutatjuk az össz-sejt koncentrációt, az élő sejt koncentrációt, e kettő aránya adja a sejt életképességét. A fermentáció befejezésének megfelelő végső elemzésre

szánt mintát a joghurt megkeverése után vesszük. Az értékeket sejtszám/ml fermentlé egységben fejezzük ki.

Idő (óra)	Szacharóz (szukróz)	GLUCIDEX®6	Frukto- -oligoszacharidok	Elágazó láncú maltodextrinek
Össz-sejtszám/élősejt-szám				
0	$1,89 \times 10^8$ $1,46 \times 10^8$	$1,92 \times 10^8$ $1,51 \times 10^8$	1×10^8 $0,8 \times 10^8$	$1,67 \times 10^8$ $1,33 \times 10^8$
1	$3,28 \times 10^8$ $2,61 \times 10^8$	$5,67 \times 10^8$ $4,49 \times 10^8$	$1,75 \times 10^8$ $1,42 \times 10^8$	$3,64 \times 10^8$ $2,98 \times 10^8$
2	$3,14 \times 10^8$ $2,54 \times 10^8$	$7,27 \times 10^8$ $5,68 \times 10^8$	$2,49 \times 10^8$ $2,01 \times 10^8$	$6,24 \times 10^8$ $4,88 \times 10^8$
3	$5,81 \times 10^8$ $4,17 \times 10^8$	$9,86 \times 10^8$ $8,4 \times 10^8$	$4,32 \times 10^8$ $2,89 \times 10^8$	$12,9 \times 10^8$ $10,5 \times 10^8$
4	$7,8 \times 10^8$ $6,3 \times 10^8$	$22,4 \times 10^8$ $15,4 \times 10^8$	$8,41 \times 10^8$ $6,57 \times 10^8$	$33,8 \times 10^8$ $23,3 \times 10^8$
4.25	-	$37,4 \times 10^8$ $25,8 \times 10^8$ 67%	-	$34,1 \times 10^8$ $22,2 \times 10^8$ 65%
4.33	-	-	$8,5 \times 10^8$ $7,5 \times 10^8$	-
4.5	-	-	14×10^8 $11,5 \times 10^8$ 82%	-
5	$10,5 \times 10^8$ $7,2 \times 10^8$ 68%	-	-	-

Az életképességet minden egyes tápközeg esetén kiszámítjuk az élő sejtek és az össz sejtek számának arányaként, ezt %-ban fejezzük ki. Az életképesség 68, 67, 82, illetve 65 %. Az alkalmazott aktivátor-szacharidtól függően

az élő sejt koncentráció 1,6-3,6-szor nagyobb, mint a szacharóz (szukróz) kontroll esetén, a GLUCIDEX®6 és az elágazó láncú maltodextrinek a legerősebb szaporodás-aktivátorok. Tény, hogy az az idő, amely a pH = 4,4 érték eléréséhez szükséges határozottan rövidebb: 4,25 óra GLUCIDEX®6 és elágazó láncú maltodextrinek alkalmazásakor, illetve 4,5 óra frukto-oligoszacharidok alkalmazásakor, míg szacharóz (szukróz) alkalmazásakor 5 óra szükséges.

3. Példa

Az 1. példában leírt körülmények mellett hajtjuk végre a vizsgálatot, de a GLUCIDEX® koncentrációját változtatjuk, emellett szacharózt (szukrózt) nem alkalmazunk, és egy mintánál intenzív édesítőszereket használunk. Eredményeinket az alábbi táblázatban mutatjuk be:

SZACHARID	KONCENTRÁCIÓ (%)	Detekciós idő (óra)
Szacharóz (szukróz)	10	3,9
GLUCIDEX®6	0	3,9
	2	3,4
	4	3,1
	6	2,9
	8	2,7
	10	2,7
GLUCIDEX®6 + édesítőszerek	10	2,7

A 8%-ot meghaladó GLUCIDEX®6 koncentrációknál 30 %-os látencia idő csökkenést észlelünk. Ezt az eredményt nem változtatja meg az intenzív édesítőszerek adagolása.

Ha a GLUCIDEX®6 és a szacharóz (szukróz) koncentrációját úgy változtatjuk, hogy össz-koncentrációjuk 10 % legyen, az alábbi eredményeket nyerjük:

SZACHARÓZ (SZUKRÓZ) (%)	GLUCIDEX®6 (%)	Detekció idő (óra)
10	0	3,9
8	2	3,7
6	4	3,3
4	6	2,9
2	8	2,6
0	10	2,4

Ha a fermentációs közegben a találmány szerinti aktivátor szacharidokat alkalmazzuk, az alábbi változásokat észleljük:

- a baktérium szaporodás látencia periódusa csökken,
- gyorsabb a savanyodás, miáltal a pH = 4,4 érték eléréséig szükséges fermentációs idő kevesebb,
- a baktérium populáció 2-4-szer nagyobb számú, és megnövekedett életképességű.

Szabadalmi igénypontok

1. Eljárás élelmiszer-fermentáló anyagok előállítására tejsavbaktériumok tápközegben való fermentálásával, **azzal jellemezve**, hogy a tápközegbe legalább egy fermentáció-aktivátor szacharidot adunk, amely a maltodextrinek, elágazó láncú maltodextrinek, oldható keményítők és oligoszacharidok, valamint ezek elegyei körébe tartozó.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, **azzal jellemezve**, hogy az aktivátor szacharidot legalább 0,1 tömeg% koncentrációban adjuk a tápközegbe.

3. Az 1 vagy 2. igénypont szerinti eljárás, **azzal jellemezve**, hogy tejsavbaktériumként *Lactobacillus delbrueckii* sp. *bulgaricus* és/vagy *Streptococcus thermophilus* alkalmazunk.

4. Az 1-3. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, **azzal jellemezve**, hogy a tápközegbe 0,1-30 tömeg%, előnyösen 0,1-25 tömeg%, még előnyösebben 0,5-15 tömeg% mennyiségben legalább egy fermentáció-aktivátor szacharidot adunk, amely a maltodextrinek, elágazó láncú maltodextrinek, oldható keményítők és oligoszacharidok, valamint ezek elegyei körébe tartozók.

5. Eljárás fermentált élelmiszer készítmény előállítására, **azzal jellemezve**, hogy az eljárás legalább egy olyan lépést tartalmaz, amelyben az 1-4. igénypontok bármelyike szerinti eljárást alkalmazzuk.

6. Az 5. igénypont szerinti eljárással előállított élelmiszer készítmény.

7. A 6. igénypont szerinti élelmiszer készítmény, amely fermentált tej.

8. Eljárás élelmiszer-fermentáló anyagok tartósítására, **azzal jellemezve**, hogy legalább egy fermentáció-aktivátor szacharidot alkalmazunk, amely a maltodextrinek, elágazó láncú maltodextrinek, oldható keményítők, oligoszacharidok, valamint ezek elegyei körébe tartozó.

9. A 8. igénypont szerinti tartósítási eljárás, **azzal jellemezve**, hogy liofilizést hajtunk végre.

10. Eljárás élelmiszer-fermentáló anyagok előállítására tejsavbaktériumok tápközegben való fermentálásával, **azzal jellemezve**, hogy a tápközegbe legalább egy fermentáció-aktivátor szacharidot adunk, amely az elágazó láncú maltodextrinek, oldható keményítők és oligoszacharidok, valamint ezek elegyei körébe tartozó.

A bejelentő

helyett a meghatalmazott:

DANUBIA

Szabadalmi és Védjegy Iroda Kft.

Válas Györgyné dr.

szabadalmi ügyvivő