



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék

Alkalmazott biotechnológia modul

Biomérnöki alapképzési szak

Szabó Bálint Imre

**Probiotikus *Lactobacillus fermentum* LF08 törzs
intracelluláris β -galaktozidáz enzim termelésének
optimalása**

Budapest

2023

A mai világban egyre nagyobb hangsúlyt fektetünk az egészséges életre, a legfrissebb trendek igyekeznek felhívni a figyelmet a tudatos étkezésre az egészségünk megőrzése, valamint az immunrendszerünk erősítése érdekében. Napjainkban a funkcionális élelmiszerek iránt megnőtt a kereslet, melyek valamilyen hozzáadott értéket képviselnek és kedvező hatással vannak a szervezetünkre. Az aktív élő probiotikumokat, valamint prebiotikumokat tartalmazó élelmiszerek is ebbe a csoportba tartoznak.

A probiotikumok „élő mikroorganizmusok, amelyek megfelelő mennyiségben adagolva jelentős egészségügyi előnyökkel járnak a gazdaszervezet számára”, (FAO-WHO, 2001-2002). Az általuk termelt termékek pl. az ecetsav, tejsav csökkentik a gyomorsav pH értékét, verseny alakul ki a káros és jótékony hatású baktériumok közt a tápanyagokért, utóbbiak visszaszorítják a potenciálisan patogén mikroorganizmusok szaporodását. Esszenciális aminosavakat, vitaminokat termelnek, továbbá az ásványi anyagok felszívódását is elősegítik. Gyomor-bélrendszeri panaszok, megbetegedések kezelésére is alkalmasak, mivel helyreállítják a mikrobiom egyensúlyát. Gyulladás csökkentő hatást is kifejthetnek, képesek serkenteni az immunrendszer működését és csökkenteni az allergiás reakciók megjelenését, valamint a koleszterinszint mérséklésével a szívbetegségek esetén is felmerül alkalmazásuk. A β -galaktozidáz képes a galakto-oligoszacharidok szintézisére, melyek olyan élelmiszer összetevők, melyek sértetlenül képesek áthaladni a gyomor-bél traktuson és túlélni annak környezetében. Fokozzák a rövid szénláncú zsírsavak termelését, segítik a vastagbél hámsejtjeinek növekedését és differenciálódását, elősegítik a kalcium felszívódását, ezáltal a csontok összetételére is pozitívan hatnak. A tejiparban az élelmiszer jellemzőinek javítására alkalmazzák mivel képes kiküszöbölni egyes szénhidrátok kikristályosodását a tejben. A hidrolitikus aktivitásuk révén képesek lebontani a laktózt, így a termékek laktóz mentesek vagy csökkentett laktóz tartalmúak lesznek. Ezeket a laktózérzékenyek is fogyaszthatják, ezzel a potenciális vevők száma is növekszik ugyanis a Föld népességének mintegy 75%-át érinti ez a betegség.

A *Lactobacillus* nemzetség probiotikus tulajdonságú tagjai és az általuk előállított β -galaktozidáz enzim egyaránt széleskörű felhasználási lehetőségekkel rendelkezik. Kutatómunkám során a probiotikus *Lactobacillus fermentum* LF08 törzs β -galaktozidáz enzimét vizsgáltam. A fermentáció paramétereinek, különös tekintettel a tápközeg szén és nitrogén forrásának optimalizálásával a célom az enzim termelésének fokozása volt.

A *Lactobacillus fermentum* LF08 által előállított β -galaktozidáz intracellulárisan termelődik. Ahhoz, hogy az enzim hozzáférhetővé váljon, szükséges a sejtfal roncsolása. A feltáráshoz kémiai módszert alkalmaztam. A kutatásom kezdetén a liofilizált baktérium törzsem

felélesztéséhez glükózzal kiegészített tápközeget készítettem. Az enzim fermentációt 4% laktózt tartalmazó MRS tápközegetben végeztem, s egyénileg vizsgáltam a proteáz-pepton, húskivonat és élesztőkivonat enzim aktivitására gyakorolt hatását. A nitrogén források közül 50°C-on az élesztőkivonatot tartalmazó MRS táplevesben mérhető a legmagasabb aktivitás. A proteáz-pepton és a húskivonat nitrogénforrások alkalmazásával, azonban 40°C-on az aktivitások kedvezőbben alakultak. A törzs Tóth (2019) kutatása során termofil karakterisztikát mutatott, így a továbbiakban a vizsgálatot 50°C-on folytattam. Az enzimaktivitás fokozása érdekében inokulum tápközeget készítettem, mely során a tápközegetben lévő glükóz β -galaktozidázra kifejtett gátló hatását észleltem. A szerves nitrogén források közül az ammónium-szulfát, az ammónium-nitrát és az ammónium-klorid enzim termelés befolyásoló hatását vizsgáltam és végül megállapítottam, hogy közülük az ammónium-klorid kedvez az enzim szintézisének. Kontrollként a 2% laktózzal kiegészített MRS inokulumból származó tenyésztetet oltottam 4% laktózos MRS fermentációs tápközegetbe, mely aktivitásával azt is bizonyította, hogy az inokulumban lévő laktóz indukálhatja az enzim aktivitást, valamint a szerves és a szerves nitrogénforrások egyéni alkalmazása kevésbé hatékony. A szénforrásokat vizsgálva megfigyeltem, hogy az 1% galaktózos kiegészítéssel készített MRS tápközegetben kimagasló a β -galaktozidáz enzim termelés. A szénforrások együttes hatását vizsgálva, a glükóz által kifejtett repressziós hatás laktóz és galaktóz jelenlétében mérséklődött. Amennyiben módosítottam az inokulum tápközeget glükóz helyett galaktóz kiegészítéssel, a kutatási sorozatom legmagasabb enzimaktivitását jegyeztem fel a 24 órás fermentációt követően. A szénforrások esetén felmerül a tápközeget kimerülése is, hiszen a 24 órai maximális értékek elérését követően 48 óránál az aktivitások csökkenése figyelhető meg. A megfelelő inokulum és fermentációs tápközegek kiválasztásával az enzim 5 napos, hűtött körülmények között végrehajtott tárolása után is képes volt az aktivitás mértékét fenntartani.

A laktóz és galaktóz konzisztenciáját tekintve kedvezőtlenebb a glükóznál, kevésbé édesek és kevésbé oldékonyak. Azonban a *Lactobacillus fermentum* LF08 képes ezen cukrok hasznosítására. A β -galaktozidáz alkalmazható a tejsavóból származó laktóz hidrolízisére csökkentve a hulladék mennyiségét, vagy transzglykolizációval prebiotikus hatású galakto-oligoszacharidokat előállítani, melyek a mikrobiom egyensúlyának fenntartásához járulnak hozzá. Emellett az enzim hőstabilitása lehetővé teszi, annak nagyobb ipari szintű előállítását és termékbe való áthelyezését.