



A kép illusztráció / Picture is for illustration only

Zurbó Zsófia¹, Csapó János^{1,2}

Érkezett: 2019. december – Elfogadva: 2020. március

Prebiotikumok előállítása a laktóz-almasav és a laktóz-citromsav reakciójával

KULCSSZAVAK: laktóz, almasav, citromsav, prebiotikum, cukor-meghatározás, enzimes bontás

1. ÖSSZEFOGLALÁS

A prebiotikumok olyan emészthetetlen élelmiszer komponensek, amelyek a vastagbélbe jutva a bifidobaktériumok és a laktobacillusok számára tápanyagul szolgálnak. A diétás rostok és az oligoszacharidok tipikus prebiotikumok, ezért kísérleteink során prebiotikumokat állítottunk elő a laktóz, az almasav, valamint a citromsav megfelelő koncentrációban és megfelelő ideig, optimális hőmérsékleten végzett reakciójával. Meghatároztuk a reakció ideális paramétereit, mértük a kiindulási anyagok fogyását és a végtermék koncentrációjának növekedését, sósavas hidrolízist követően elemeztük a hidrolizált prebiotikum összeszékelt tartalmát. *In vitro* kísérletekkel bebizonyítottuk, hogy az általunk előállított végtermék ellenáll a szénhidrátbontó enzimeknek (ez egy prebiotikum esetében alapkövetelmény), hogy végül a vastagbélbe jutva tápanyagul szolgáljon az ott élő probiotikus baktériumok számára.

2. Bevezetés

A probiotikumok nemzetközi nevezéktana (probiotikum, prebiotikum és szinbiotikum) a 20. század utolsó két évtizedében alakult ki, miközben a készítmények összetevőik tekintetében is egységessé váltak.

Probiotikumoknak nevezzük mindazokat a bélbaktériumokat, amelyek jótékony hatással vannak a gazdaszervezet egészségi állapotára. Azokat a természetes tápanyagokat, amelyek jellemzően a probiotikumok kizárólagos tápanyagai – ennél fogva elősegítik azok elszaporodását, túlsúlyba kerülését – *Prebiotikumoknak* nevezzük.

A *szinbiotikum* kifejezés a pro- és prebiotikumok együttesét jelenti. A szinbiotikus élelmiszerekben az előbb említett két előnyös tényező hatása összeadódik, hatásuk szinergistává válik. Ebből eredően például szinbiotikusak azok a tejtermékek, amelyek készítéséhez nemcsak probiotikumokat, hanem egy vagy több prebiotikumot is felhasználtak.

A prebiotikumok (korábbi nevükön bifidus-, vagy bifidogén-faktorok) 2-9 egyszerű cukorból (monosza-

charidból) felépülő oligoszacharidok. A gyomorban és a vékonybélben nem metabolizálódnak, így vízben oldódó diétás rostokként emészthetetlenül jutnak el a vastagbélbe. A diétásrost-funkció mellett igazi értékük abban rejlik, hogy a probiotikumok kizárólagos táplálékait képezik. Mivel a vastagbélben már kevés az emészthető táplálékmaradvány, ott a mikroflóra számára relatív táplálékhiány áll fenn. Az elfogyasztott prebiotikum azonban elősegíti a humánbarát probiotikumok elszaporodását [1].

A prebiotikumok természetes állapotukban számos élelmiszerben előfordulnak. Gazdag forrásai például a csicsóka- és a cikóriagyökér, de megtalálhatók a vöröshagymában, a fokhagymában, a póréhagymában, az articsókában, a zabpehelyben, a búzában, a banánban, a tejben és az érett sajtokban is. A probiotikus hatású készítmények gyártásánál jellemzően az ipari technológiával előállított tiszta készítményeket használják fel, amelyeket 40-95% hatóanyag-koncentrációjú folyékony sűrítvények vagy porok formájában hoznak forgalomba. A természetes ipari koncentrátumok – aszerint, hogy milyen típusú monoszacharidokból épülnek fel – lehetnek például galakto-, frukto-, malto- vagy xylo-oligoszacharidok.

¹ Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszer-tudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Élelmiszertudományi Intézet

² Sapientia Erdélyi Magyar Tudományegyetem, Csíkszeredai Campus

1995-ben több mint 80 ezer tonna prebiotikumot állítottak elő világszerte, de a termelés ma már 200 ezer tonna körül van. A világtermelés növekedése azt jelzi, hogy a probiotikus élelmiszerek iránti érdeklődés folyamatosan növekszik. A termelt mennyiség mintegy 40%-a galakto-oligoszacharid (például laktulóz), amelynek alapanyaga a tejcukor [2, 3, 4].

A prebiotikumok tehát nem emészthető poliszacharidok és oligoszacharidok. Eljutva a vastagbélbe gátolják a *Salmonella* és az *Escherichia coli* szaporodását, ugyanakkor elősegítik a bifido- és a tejsavbaktériumok szaporodását. A „prebiotikus” elnevezés 1995-ből származik [5]. Egy tápanyag prebiotikus hatásának több feltétele van [6], amelyek közül a legfontosabbak:

- Ellenállási képesség a gyomorsavnak és a pepszin emésztő hatásának;
- Tápanyagszolgáltatási képesség a bélrendszer hasznos mikroflórája részére, amelyek anyagcsere-termékei hozzájárulnak a probiotikumot fogyasztó ember egészségi állapotának, közérzetének javításához.

Ezeknek a kritériumoknak számos élelmiszer komponens megfelel, úgy mint az inulin, a fruktooligoszacharidok (FOS), a galaktooligoszacharidok (GOS), a laktulóz és a ploidextróz. Az izomaltol oligoszacharidokat (IMO), a xylooligoszacharidokat (XOS) és a laktitolt a potencionális prebiotikum csoportba sorolták [7].

A prebiotikumok sokféle élelmiszerben előfordulnak. A cikória gyökere például inulin eredetű fruktooligoszacharidokat, a búzakarpa pedig arabinxilooligoszacharidokat (AOXS) és xilooligoszacharidokat (XOS) tartalmaz. Ezeket az anyagokat a probiotikus hatású készítmények gyártásánál széles körben alkalmazzák [8, 9, 10].

A mannitol, a maltodextrin, a raffinóz, a laktulóz és a szorbitol ugyancsak egészségvédő hatással rendelkező prebiotikumok [11, 12, 13]. A rezisztens keményítőben gazdag magokat is prebiotikumoknak tartják; ezek nem emészthetők meg, ezért nem szívódnak fel a vékonybélben, ám a vastagbélbe jutva annak mikroflórája a fermentáció során hasznosítani tudja azokat, miközben rövid szénláncú zsírsavak (SCFA [*Small Chain Fatty Acid*], például propionsav, vajsav, valeriansav, kapronsav) keletkeznek. Ezek a zsírsavak a vastagbélben a pH csökkentése révén visszaszorítják a rothasztó, mérgeanyagokat termelő baktériumok szaporodását [14].

A rozs β -glükánjához hasonló fermentálható diétás rostok, valamint a lenmag és a görögszéna gumi-szerű poliszacharidjai ugyancsak prebiotikumnak tekinthetők, és szintén a rövid szénláncú zsírsavak előállításának alapanyagai, ezért egészségvédő hatással rendelkeznek. Prebiotikumoknak tekinthetők az élesztősejtek sejtfalában nagyobb mennyiségben található mannátok is [15].

Napjainkban az alultápláltság, a dohányzás és az alkoholizmus hatására jelentős a megbetegedések és a halálozások száma. Korunkra jellemző betegségek a krónikus elhízás, a gyomor- és bélrendszeri panaszok, a cukorbetegség, a szív és érrendszeri megbetegedések, a rák és a degeneratív elváltozások, amelyek száma az utóbbi időben jelentősen nőtt. Ezeknek a betegségeknek a megelőzésére vagy tüneteik mérséklésére az élelmiszerfogyasztók egyre nagyobb számban fordulnak az egészségvédő, prebiotikumokat is tartalmazó élelmiszerek felé, amelyekről életminőségük jelentős javulását várják.

A fogyasztók jelentős hányada a szénhidrátszegény, magas rost- és fehérjetartalmú élelmiszereket keresi, amellyel párhuzamosan megnőtt az érdeklődés a prebiotikus élelmiszerek iránt is. Jó példának számítanak minderre a feketeribizli levélkivonat-por, laktoferrin és luteint tartalmazó élelmiszertípusok, amelyeket világszerte nagy mennyiségben állítanak elő. Ezek a készítmények szignifikánsan növelik a bifidobaktériumok és a laktobacillusok mennyiségét, és jelentősen visszaszorítják a bakteroideszek és a klostridiumok számát a vastagbélben. Ezen túlmenően csökkentik a β -glükuronidáz, és növelik a β -galaktosidáz enzimek aktivitását a vékonybélben, ilyen módon elősegítve például a laktóz emésztését a laktázhiányos egyéneknél [16].

A búzacsíra-kiegészítés hatására 20 nap után szignifikánsan csökkent a vastagbél tartalmának pH-ja, a clostridium-populáció száma, és szignifikánsan nőtt a laktobacillus-ok és a bifidobaktériumok mennyisége, miközben az ilyen típusú készítményt fogyasztók életminősége jelentősen javult [17]. Az arabgumiról (gumiarábikum) megállapították, hogy a szisztolés vérnyomásban és a diabéteszes veseelégtelenségben szenvedők esetében csökkentette a betegségekkel kapcsolatba hozható panaszokat [18]. Megállapították, hogy 8-12 héten keresztül napi 25 g gumiarábikum készítmény elfogyasztása jó hatással volt a cukorbetegség állapotára, és jelentősen csökkentette a szisztolés vérnyomást [19].

Munkacsoportunk korábban [2, 3, 4] elvégezte a tejsavbaktériumok által termelt exopoliszacharidok és oligoszacharidok szerkezeti és mennyiségi analízisét. Jelen dolgozatunkban azon kísérleteink eredményeiről számolunk be, amelyek során a laktóz, valamint az almasav és a citromsav reakciójának segítségével prebiotikumokat állítottunk elő. Munkánk során alapnak tekintettük a [20] valamint [21] forrásokban megtalálható szabadalmi leírást, amelyben a szénhidrátok és a dikarbonsavak közti észterkötések létrehozásával felületaktív anyagokat kívántak előállítani, illetve ezen reakciók mechanizmusát tanulmányozták. A szerzők a módszert sikerrel próbálták ki cukoralkoholok, cukrok, oligoszacharidok és poliszacharidok esetében is [20, 21].

3. Célkitűzés

A szakirodalom eredményeire, valamint saját korábbi kutatásainkra támaszkodva olyan prebiotikumok előállítását tűztük ki célul, amelyek során a laktóz és az almasav, valamint a laktóz és a citromsav között hoztunk létre olyan kötéseket, amelyek az ember gyomrában és bélrendszerének előző szakaszában ellenállnak a savas közegnek és a szénhidrátbontó enzimek támadásának, eljutnak a vastagbélbe, ahol azután táplálékul szolgálnak az ott megtelepedett probiotikus mikroorganizmusoknak. Célunk volt meghatározni a reakció optimális paramétereit, a hőmérsékletet, az időt és a reagáló anyagok koncentrációját, mérni a kiindulási anyagok fogyását és a végtermék koncentrációjának növekedését, sósavas hidrolízist követően elemezni a hidrolizált prebiotikum összecukor-tartalmát. In vitro kísérletekkel bebizonyítottuk, hogy az általunk előállított végtermék ellenáll a szénhidrátbontó enzimeknek, amely alapkövetelmény egy prebiotikum esetében.

4. Anyag és módszer

4.1. Felhasznált anyagok, alkalmazott analitikai módszerek

Kísérleteinket gyógyszerkönyvi minőségű laktózzal, citromsavval és almasavval végeztük. Az általunk felhasznált almasav 99,5%-os tisztaságú volt, amely kevesebb, mint 1% fumársavat, és kevesebb, mint 0,05% malonsavat tartalmazott. Az E296 E-számú almasav minőségi bizonyítványa a <http://bbbb.hu/spec/almasav.jpg> linkről letölthető. Az általunk felhasznált anyag megfelel az USA, az EU és a Magyar Gyógyszerkönyv minőségi követelményének, valamint az EU és a Magyar Élelmiszerkönyv 1-2-89/107 sz. előírásainak.

A kísérleteinkhez használt citromsav ugyancsak étkezési, sőt gyógyszerkönyvi minőségű citromsav-monohidrát (E330) volt, amelynek minőségi bizonyítványa a <http://www.bbbb.hu/spec/Citrom.jpg>, biztonságtechnikai adatlapja pedig a <http://www.bbbb.hu/spec/citrombibt.jpg> linkről tölthető le. CAS száma 5949-29-1, EU száma 201-069-1. A minőségi bizonyítvány szerint citromsav-monohidrát tartalma közel 100%, víztartalma maximum 8,8%, oxálsav tartalma pedig kevesebb, mint 100 mg/kg. Minden paraméterében megfelel az EU és a Magyar Élelmiszerkönyv előírásainak.

A kísérletekhez használt laktóz 99,7%-os tisztaságú, étkezési minőségű, finomra porított, szarvasmarha tejből elkülönített, porlasztva szárítással előállított D(+)-laktóz 1-hidrát volt. Minősége megfelelt a Ph.Eur 8.0 minőségi előírásnak.

4.2. Alkalmazott analitikai módszerek

A laktóz és az almasav, valamint a citromsav reakciójának nyomon követésére a laktóztartalom mérését választottuk. A probiotikumok képződési reakcióját a

laktóz mennyiségének csökkenéséből tudtuk követni. A tejcukor a redukáló diszacharidok csoportjába tartozik, ezért jelenlétében működik a Fehling-reakció. Ha azonban a laktóz szabad glikozidos hidroxil csoportja kötésbe kerül, akkor a cukormolekula a továbbiakban nem adja a redukáló cukrokra jellemző reakciót. A reakció során a cukor aldehidcsoportjának hatására a Cu^{2+} -ionokból Cu^+ -ionok keletkeznek. A Cu^+ -ionok mennyiségét meghatározva a cukor mennyisége analitikai pontossággal meghatározható. A vizsgálati eljárás során 2 g mintát mértünk be egy 100 cm^3 -es mérőlombikba, hozzáadtunk 50 cm^3 vizet, és egy órán át rázógépjében ráztattuk. A cukor meghatározását zavaró anyagok eltávolítására 20-20 cm^3 Carrez I- és II-oldatot adtuk az oldathoz. A mérőlombikot ezt követően 80%-os etanollal jelre töltöttük, összeráztuk, tartalmát szűrőpapíron leszűrtük. A szűrletből kivettünk 20 cm^3 -t, amelyből az etanol fő tömegét elpárologtattuk, a bepárlási maradékot pedig kb. 50 °C hőmérsékletű desztillált vízzel egy 20 cm^3 -es mérőlombikba átmostuk, majd lehűlés után jelre töltöttük. Ezt az oldatot használtuk a későbbiekben a redukáló cukortartalom meghatározásához.

Az így előkészített oldatból 5 cm^3 -t vettünk ki egy 100 cm^3 -es Erlenmeyer-lombikba, hozzáadtunk 5 cm^3 Luff-Schoorl-reagenst, pár darab horzszakövet, majd szabad láng felett rázogattva 2 percen belül forrásba hoztuk, 10 percig forraltuk, azt követően pedig azonnal lehűtöttük. A kivált réz(II)-oxidot jodometriásan, 0,1 mól/l koncentrációjú nátrium-tioszulfát oldattal megtitráltuk. A tejcukor mennyiségét a titrálószer fogyásából számítottuk ki.

4.3. Az almasav, a citromsav és a laktóz közötti reakciók tervezése

A gyógyszerári minőségű laktózhoz első lépésben 20% citromsavat, második lépésben 20% almasavat kevertünk. Áttanulmányozva a rendelkezésre álló szakirodalmat és szabadalmakat megállapítottuk, hogy a legtöbb reakciót 130-180 °C között végezték. Kísérleteinkhez ezért 170 °C reakció-hőmérsékletet választottunk. A mintákat dörzsoszárban összekevertük, biztosítva a minták megfelelő homogenitását. Ezt követően kb. 10-10 gramm mintát különböző üvegedényekbe szétosztva 5-10-20-30-40-50-60 percig végeztük azok hőkezelését, majd lehűlés után elvégeztük a minták laktóztartalmának meghatározását.

A következő kísérletben a hőmérséklet hatását vizsgáltuk a citromsav, az almasav és a laktóz közötti reakcióra. A 20% citromsavat, 20% almasavat, valamint 80% laktózt tartalmazó mintákat első kísérletben 130 °C-on, a második kísérletben 140 °C-on, a harmadik kísérletben 150 °C-on, a negyedik kísérletben 160 °C-on, az ötödik kísérletben pedig 170 °C-on egyaránt 30 percig kezeltük. Lehűlés után egyenként elvégeztük a minták laktóztartalmának a meghatározását. A visszamaradó laktóz mennyiségét a reakciótermék 100 grammjában mérhető arányban (tömegszázalék) adtuk meg.

4.4. Eredmények és értékelésük

4.4.1. A 170 °C-on végzett hőkezelés idejének hatása a laktóz és a karbonsavak közötti reakcióra

Az **1. táblázat** a 170 °C-os hőkezelés idejének hatását mutatja be a laktóz és a citromsav közötti reakcióra.

20% citromsavat adva a laktózhoz, a hőkezelést pedig 170 °C-on különböző ideig végezve megállapítottuk, hogy hőkezelés hatására a kiinduló fehér színű keverék 5 perc alatt megsárgult, 10 perc alatt megbarnult és felhólyagzott. Ezt követően pedig csak a keverék színe mélyült, látszólagos térfogata gyakorlatilag változatlan maradt.

A laktóz és az almasav közötti reakcióban 170 °C-on a hőkezelés idejének hatását a **2. táblázat** mutatja be.

20% almasavat adva a laktózhoz, a hőkezelést pedig a citromsavhoz hasonlóan különböző ideig végezve megállapítottuk, hogy a minták színe 5 perc alatt alig változott, 10 perc alatt kissé megsárgult, 20 perc alatt sárgásbarnává vált, majd folyamatosan duzzadt, az utolsó mintánál pedig a reakciókeverék színe sötétbarnává változott.

A citromsavval és az almasavval végrehajtott reakciókból visszamaradó laktóz-mennyiségeket grafikusán az **1. ábrán** mutatjuk be.

4.4.2. Az azonos ideig különböző hőmérsékleten végzett hőkezelés hatása a laktóz és a karbonsavak közötti reakcióra

A **3. táblázat** a különböző hőmérsékleten azonos időtartam alatt (30 percig) végzett hőkezelés hatását mutatja a laktóz és a citromsav, valamint a laktóz és az almasav közötti reakció esetében.

1. táblázat. A 170 °C-on végzett hőkezelés idejének hatása a laktóz és a citromsav közötti reakcióra
Table 1. Effect of heat treatment time at 170 °C on the reaction between lactose and citric acid

Minta jelzése Sample ID	Minta (reakciókeverék) Sample (reaction mixture)	Hőkezelés ideje (perc) Heat treatment time (min)	Maradék laktóz (%) Residual lactose (%)
M1	80 g laktóz + 20 g citromsav 80 g lactose + 20 g citric acid	5	73.6
M2	80 g laktóz + 20 g citromsav 80 g lactose + 20 g citric acid	10	63.4
M3	80 g laktóz + 20 g citromsav 80 g lactose + 20 g citric acid	20	48.4
M4	80 g laktóz + 20 g citromsav 80 g lactose + 20 g citric acid	30	35.4
M5	80 g laktóz + 20 g citromsav 80 g lactose + 20 g citric acid	40	21.9
M6	80 g laktóz + 20 g citromsav 80 g lactose + 20 g citric acid	50	12.3
M7	80 g laktóz + 20 g citromsav 80 g lactose + 20 g citric acid	60	7.1

2. táblázat. A 170 °C-on végzett hőkezelés idejének hatása a laktóz és az almasav közötti reakcióra
Table 2. Effect of heat treatment time at 170 °C on the reaction between lactose and malic acid

Minta jelzése Sample ID	Minta Sample	Hőkezelés ideje (perc) Heat treatment time (min)	Laktóz (%) Lactose (%)
M8	80 g laktóz + 20 g almasav 80 g lactose + 20 g malic acid	5	70.6
M9	80 g laktóz + 20 g almasav 80 g lactose + 20 g malic acid	10	68.3
M10	80 g laktóz + 20 g almasav 80 g lactose + 20 g malic acid	20	52.1
M11	80 g laktóz + 20 g almasav 80 g lactose + 20 g malic acid	30	33.4
M12	80 g laktóz + 20 g almasav 80 g lactose + 20 g malic acid	40	25.3
M13	80 g laktóz + 20 g almasav 80 g lactose + 20 g malic acid	50	19.2
M14	80 g laktóz + 20 g almasav 80 g lactose + 20 g malic acid	60	16.4

A 130 °C-on fél óráig történő hőkezelés hatására a minták fehér színüket gyakorlatilag megtartották, 140 °C-on mind a citromsavat, mind az almasavat tartalmazó minták megsárgultak, 150 °C-on a sárgulás mindkét karbonsavnál tovább fokozódott, 160 °C-on a citromsavas és az almasavas minta is erőteljesen megbarnult, míg a 170 °C-on fél órán át végzett hőkezelésnél a citromsavas minta egy barna masszává állt össze. Az almasavas minta szintén barnára változott, a barna elszíneződés azonban a többi mintához képest világosabb maradt.

A különböző hőmérsékleteken 30 perc alatt végrehajtott reakciókban visszamaradó laktóz százalékos arányát a **2. ábra** szemlélteti.

4.5. Következtetések

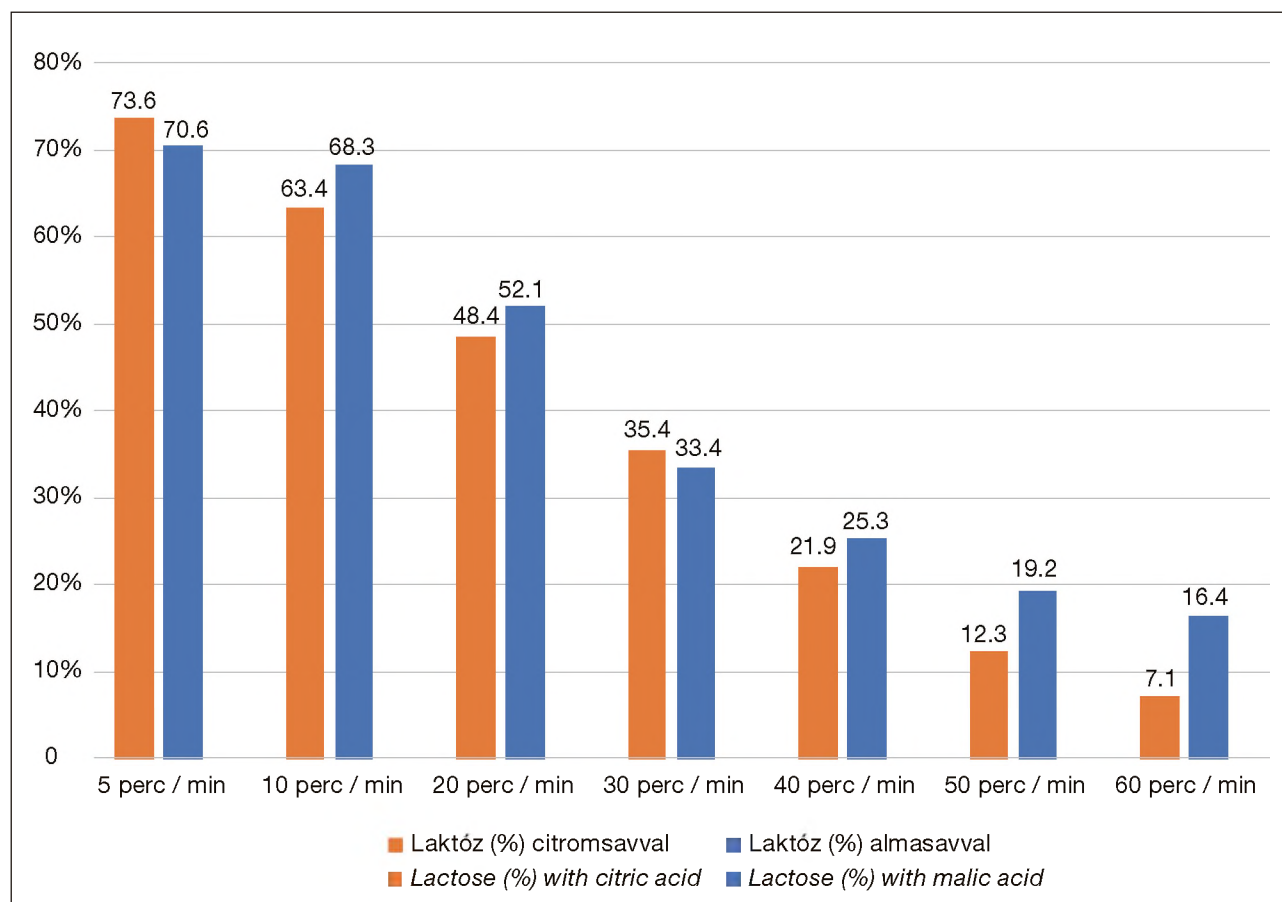
4.5.1. Idő- és hőmérsékletfüggés

A laktóztartalom meghatározásával sikerült megállapítani, hogy az eredetileg 80% laktózt tartalmazó keverékből hány százalék alakult át valamilyen oligomerré vagy polimerré. Amennyiben a hőkezelés során a laktózkoncentrációja jelentős mértékben csökkent, úgy az alkalmazott hidroxikarbonsavak vélhetően különböző lánchosszúságú molekulákat létrehozva reagáltak a laktózzal.

A 24 mintából elvégezve a laktóztartalom meghatározást a következő eredményeket kaptuk. Az első kísérletben 80 g laktózhhoz 20 g citromsavat, a második kísérletben 80 g laktózhhoz 20 g almasavat kevertünk, majd elvégeztük a hőkezelést 170 °C-on, rendre 5, 10, 20, 30, 40, 50 és 60 percig. Egy ezt követő kísérletben a hőmérsékletfüggést vizsgáltuk, amelynek során az előzőekben felsorolt mintákat (citromsavas, illetve almasavas) 30 percig 130, 140, 150, 160 és 170 °C-on kezeltük. Ebben a kísérletsorozatban arra kívántunk választ kapni, hogy melyik az az optimális hőmérséklet, amelynek alkalmazásával a laktóz és a hozzákevert karbonsavak között lejátszódó reakció során a legtöbb oligomert, polimert sikerül előállítani.

Kísérleteinkhez 20% eritritet és 80% laktózt tartalmazó kontrollminta-keveréket állítottunk össze annak érdekében, hogy a 30 percig tartó, 170 °C-os hőkezelés során megállapíthassuk, hogy – mivel a laktóz az eritrittel nem reagál – milyen mértékű a tejcukor hőbomlása. A hőkezelés során a keverék laktóztartalmát 79,1%-nak találtuk.

A laktóz citromsavval 5 percig történő hőkezelése után annak mennyisége 73,6%-ra, 60 percig történő hőkezelés után pedig 7,1%-ra csökkent. Ezek alapján úgy véljük, hogy a citromsavas hőkezelés során a laktóz kb. 93%-a valamiféle oligomer vagy polimer vegyületté alakult át.



1. ábra. A citromsavval és az almasavval különböző időtartam alatt végrehajtott reakciókból visszamaradó tejsav mennyisége

Figure 1. Amount of residual lactose after reaction with citric acid and malic acid over different periods of time

A második kísérletben az 5 percen keresztül hőkezelt, almasavat tartalmazó minta laktóz tartalmát 70,6%-nak, a 60 perces kezelés utáni laktózmaradékot pedig 16,4%-nak mértük. 60 perc alatt a laktóz 83-84%-a alakult át reakciótermékké. Kísérleti eredményeink alapján úgy gondoljuk, hogy úgy az almasav, mint a citromsav laktózzal való reagáltatásával oligomerek vagy polimerek előállítására van lehetőség.

A reakció hőmérsékletfüggésével kapcsolatban a következő eredményeket kaptuk. A citromsavas mintát 130 °C-on 30 percig hőkezelve a laktózból csupán mintegy 1-2% mennyiség alakult át a kívánt reakciótermékké. Ugyanebből a mintából a 170 °C-os hőkezelt után viszont csak 16,4% laktózt tudunk visszanyerni, tehát a laktóz több mint 80%-a oligomerré vagy polimerré alakult át. Almasavval 130 °C-on megismételve a kísérletet a laktóz mintegy 30%-a alakult át 30 perc alatt. Szintén 30 perc alatt 170 °C-on a laktóz tömegének 70%-a lépett reakcióba az almasavval.

A második kísérletből le lehet vonni azt a következtetést, hogy magasabb hőmérsékleten a citromsav és az almasav is megfelelő partnernek bizonyult laktóz oligomerek vagy polimerek kialakítására. A 130 °C-os hőmérséklet kevésnek tűnik, ezért inkább a 160-170 °C-on 30 percig, esetleg 150-160 °C-on 1 órán át végzett hőkezelt javasoljuk az ideális oligomer- és polimer-kihozatal érdekében. Az eritrittel végzett

kontrollminta-kísérletből kiderült, hogy az alkalmazott hőmérsékleti viszonyok és időtartam mellett a laktóz nem bomlott el, hiszen a mintához kevert tejcukrot szinte teljes egészében visszanyertük.

4.5.2. Az előállított prebiotikum cukortartalmának meghatározása sósavas hidrolízis után

A kapott reakciótermékekből sósavas hidrolízissel kíséreltük meg a laktóz kémiai kötéseiből történő felszabadítását. Hipotézisünk az volt, hogy a hidrolízist követő cukormeghatározás eredményeiből majd látni lehet, hogy a laktóz csakugyan beépült-e a nem redukáló hatású polimerekbe, vagy esetleg más – nem várt – kémiai átalakulás ment végbe a reakció során. A sósavas hidrolízist követően az összes cukortartalom-meghatározás kedvező eredményt hozott. Annál a mintánál, amelyet 170 °C-on 60 percig 20% citromsav jelenlétében hőkezeltünk, a maradék laktóztartalom 7,1% volt, amely a sósavas hidrolízist követően összescukor-tartalomban mérve 46,3%-ra nőtt. A 20% almasavval 170 °C-on 60 percig végzett hőkezelt követően a maradék laktóztartalom összes cukorban kifejezve a sósavas hidrolízist követően 16,4%-ról 51,2%-ra emelkedett. A 170 °C-on 30 percig végzett hőkezelt követően 20% citromsav jelenlétében a maradék laktóztartalom összes cukorban kifejezve 16,4%-ról 54,9%-ra, almasav esetében pedig 25,5%-ról 53,8%-ra nőtt.

3. táblázat. A különböző hőmérsékleten 30 percig végzett hőkezelt hatása a laktóz, a citromsav és az almasav közötti reakcióra

Table 3. Effect of heat treatment at different temperatures for 30 minutes on the reaction between lactose and citric acid and between lactose and malic acid

Minta jelzése Sample ID	Minta Sample	Hőmérséklet (°C) Temperature (°C)	Laktóz (%) Lactose (%)
M15	80 g laktóz + 20 g citromsav 80 g lactose + 20 g citric acid	130	78.2
M16	80 g laktóz + 20 g almasav 80 g lactose + 20 g malic acid	130	56.8
M17	80 g laktóz + 20 g citromsav 80 g lactose + 20 g citric acid	140	48.1
M18	80 g laktóz + 20 g almasav 80 g lactose + 20 g malic acid	140	55.4
M19	80 g laktóz + 20 g citromsav 80 g lactose + 20 g citric acid	150	33.4
M20	80 g laktóz + 20 g almasav 80 g lactose + 20 g malic acid	150	38.3
M21	80 g laktóz + 20 g citromsav 80 g lactose + 20 g citric acid	160	25.6
M22	80 g laktóz + 20 g almasav 80 g lactose + 20 g malic acid	160	29.7
M23	80 g laktóz + 20 g citromsav 80 g lactose + 20 g citric acid	170	16.4
M24	80 g laktóz + 20 g almasav 80 g lactose + 20 g malic acid	170	25.5

Mérési eredményeinkből az következik, hogy a hőkezeléses reakciók alatt a tejcukor legnagyobb része nem bomlott el, hanem olyan oligomerré vagy polimerré alakult át, amely a Fehling-reakciót csak minimális mértékben adja. Amikor azonban az oligomereket, illetve a polimereket sósavas hidrolízissel mono- esetleg diszacharidokká alakítottuk át, akkor a keletkezett cukorszerű anyagok (valószínűleg nagyobb részben glükóz és galaktóz, kisebb részben laktóz) adták a Fehling-reakciót, és összes cukorként voltak meghatározhatók.

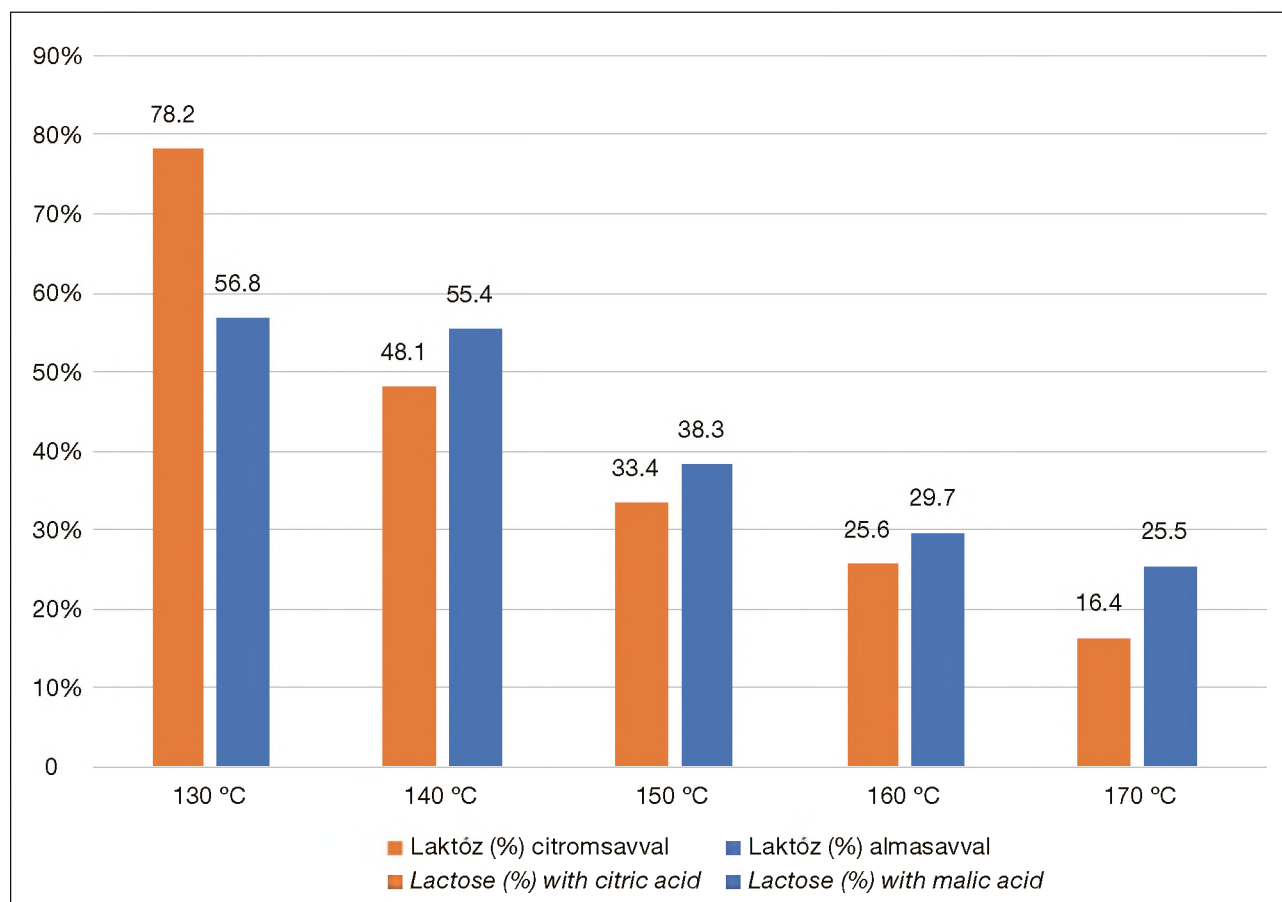
4.5.3. Az előállított prebiotikum amiláz enzimmel történő kezelése

A hőkezeléses reakciók során nyert termékeket egy másik kísérletsorozatban *amilázzal* is hidrolizáltuk, modellezve a bél elülső szakaszában lejátszódó reakciókat. Az *amilázzal* történő hidrolízist követően az összescukor-tartalom gyakorlatilag nem változott. Ebből az következik, hogy az *amiláz* a diszacharid laktózzal nem lépett természetes reakcióba, de a kísérleteinkben előállított oligo- és a poliszacharid származékokat sem volt képes hasítani. Így a kísérleteinkben előállított, egyelőre nem azonosított, feltételezhetően oligomer és/vagy polimer termék rendelkezik azokkal a tulajdonságokkal, amelyek a prebiotikus hatás alapfeltételei. Vagyis az emberi

bélcsatorna elülső szakaszában nem bomlik le, nagy valószínűséggel eljut a vastagbélbe, ahol táplálékul szolgálhat az ott élő probiotikumoknak.

5. Köszönetnyilvánítás

A publikáció elkészítését az EFOP-3.6.3-VE-KOP-16-2017-00008 számú projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.



2. ábra. A citromsavval és az almasavval különböző hőmérsékleteken végrehajtott reakciókból visszamaradó tejsav mennyisége
Figure 2. Amount of residual lactose after reaction with citric acid and malic acid under different temperatures