

Stabilita post-bioticky aktívnych enkapsulovaných laktobacilov z kozieho mlieka a ovčieho hrudkového syra v jogurtoch

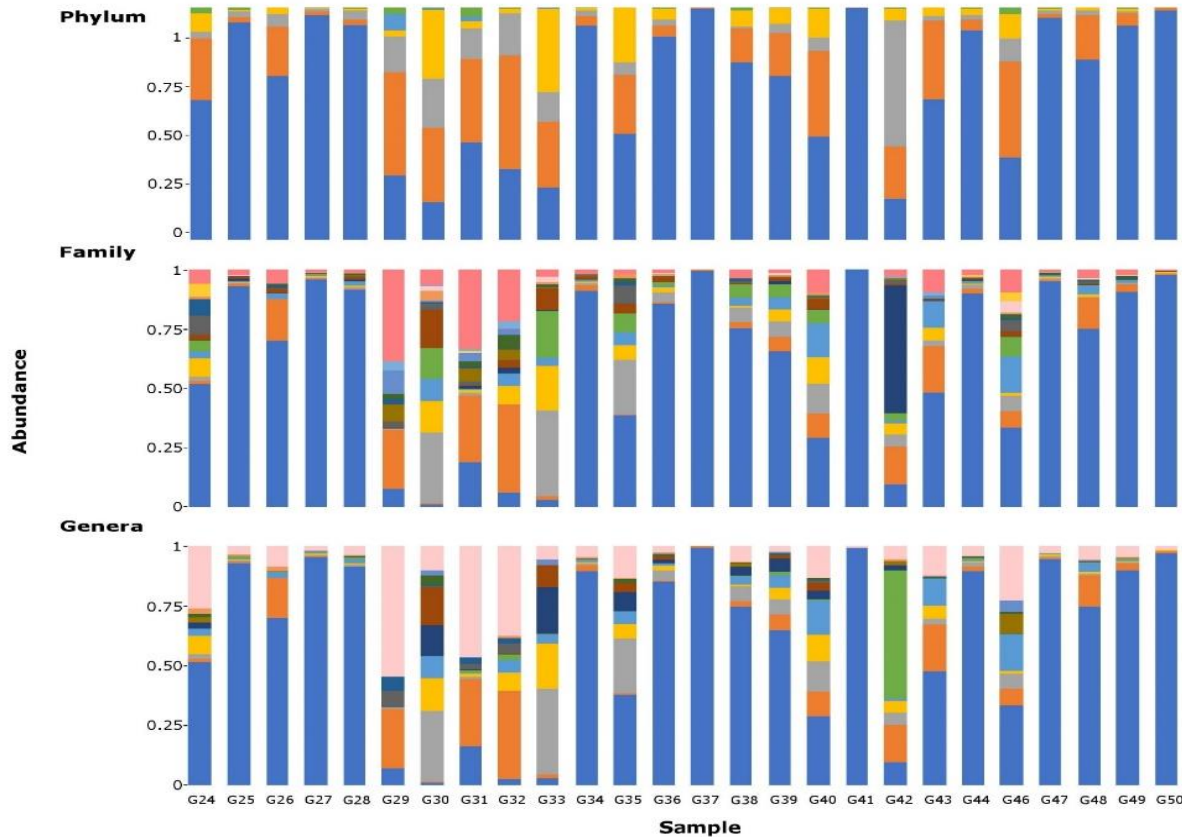
Lauková Andrea, Ščerbová Jana,
Bino Eva, Zábolyová Natália,
Pogány Simonová Monika

Centrum biovied SAV v.v.i. Ústav fyziológie hospodárskych
zvierat v Košiciach, Slovensko

- Kozie mlieko-viac minerálnych látok (Ca) než kravské mlieko (horčík, draslík, fosfor, meď, zinok, ale aj stopové prvky ako mangán a chróm)
- Vitamíny A, B1, B2, B12, C, D, E, K a kyselina listová
- Mastné kyseliny: maslová, kaprónová, kaprylová, kaprínová, palmová, arachidonová, linolénová
- Vyššie % zastúpenia amínokyselín: treonín, izoleucín, lyzín, tyrozín, cysteín a valín
- Obsahuje prospešnú mikrobiotu dôležitú aj pre rozvoj chuti, vône, textúry ako aj pre technologické parametre ako aj pre zdravie významné parametre
- **Kozie mlieko** je označované aj ako funkčná a/alebo nutrične hodnotná tekutina bohatá na bioaktívne komponenty-aj bakteriocín-produkujúce kmene resp. **post-bioticky aktívne kmene**
- **Funkčná potravina** - bežná, tradičná, ale obohatená o nejakú zložku, cez ktorú dochádza cielene ku podpore zdravia konzumenta-**foodiceutiká (potraviny majúce profylaktické alebo kurabilné účinky)**

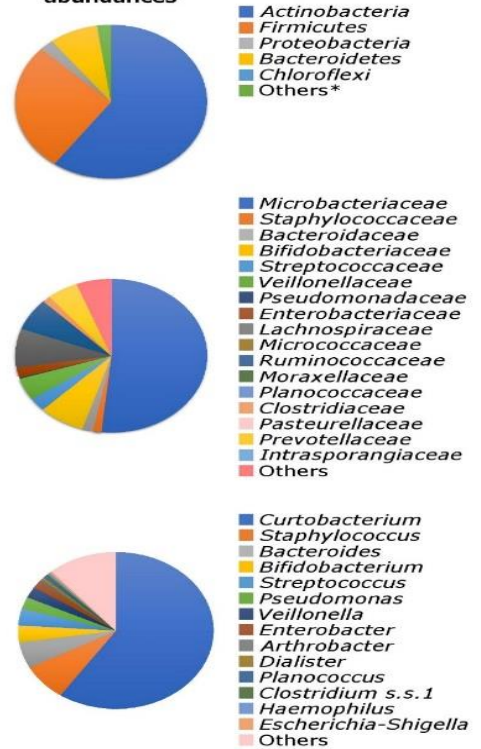
Raw goat milk

A



B

Average relative abundances



LPa 12/1 (surové kozie mlieko)

Lactobacillus paracasei-*Lacticaseibacillus paracasei*

(Zheng et al. 2020), identifikovaný taxonomicky MALDI-TOF spektrometriou (skóre 2.004 teda rozsah 2.200-2.299)

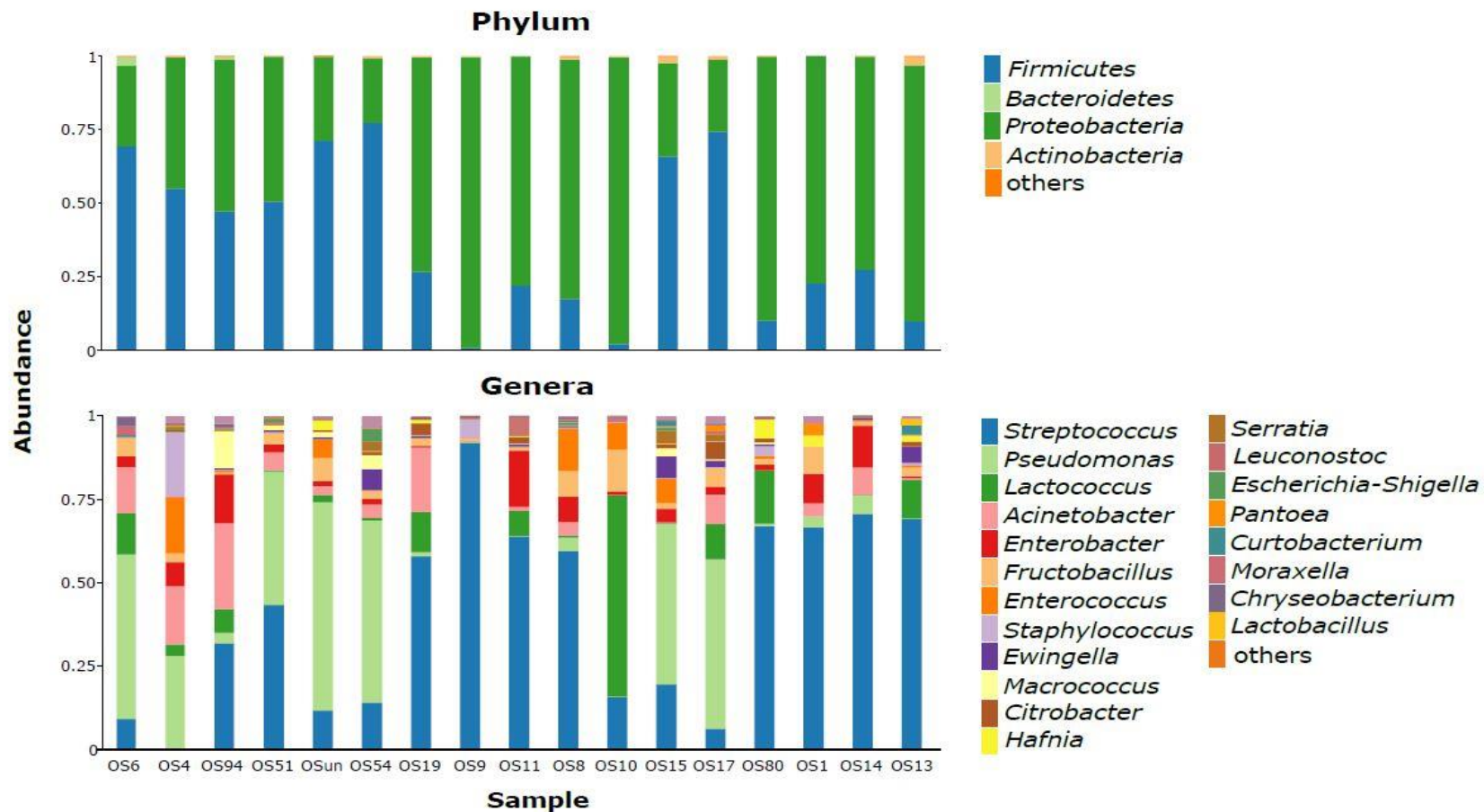
- Produkcia β -galaktozidázy (10 nmol)
- α -hemolýza=bez hemolýzy
- Biofilm- 0.125 ± 0.35
- Citlivý ku antibiotikám
- Bakteriocínová substancia (100 AU/ml na EA5)
- Dostatočný rast v mlieku-24 h (BioSan -10E9 CFU/ml)
- Tolerantný ku nízkemu pH (3), oxgal/bile
- **Bezpečný-myši Balb/c**
- Celkovo 28/13 indikátorov; (10/5, Van-rez. potravinové *E. faecium*), 11/4 fekálnych psích *E. faecalis*, 5/3 kravských *Staphylococcus chromogenes*, *L. monocytogenes* LM7223 (No inhibition), EA5 (100 AU/mL)
- Inh. aktivita inaktivovaná po ošetrení precipitátu: α -chymotrypsín, trypsin, pepsín a proteináza K (EA5, 100 AU/ml). Precipitát bol aktívny aj 2 t. po uskladnení pri $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (100AU/ml) - EA5, ako aj po vystavení teplote $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1 h (100 AU/ml).



ČERSTVÝ OVČÍ HRUDKOVÝ SYR - TSG- (TRADITIONAL
SPECIALITY GAURANTED) - NOVEMBER 2010
MÁ CHARAKTERISTICKÚ CHUŤ AKO VÝSLEDOK
TRADIČNÉHO SPRACOVANIA (FERMENTÁCIE) A RUČNÉHO
VYTVAROVANIA DO HRUDKY



Ovčí hrudkový syr salašnícky

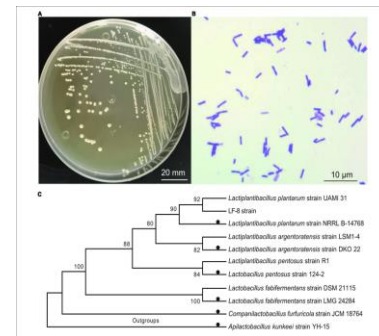


Sekvenačná analýza mikrobioty v ovčom hrudkovom syre na úrovni fylo-kmeňa a rodov

Lactiplantibacillus plantarum LP 17L/1

(izolovaný z ovčieho hrudkového syra)

- Sequencing (Blastn analysis 16S rRNA), nucleotide sequence matching with the reference strain in GenBank- MK611169.1.
- LP 17L/1 je deponovaný v GenBanku - access number **ON114094**
- Deponovaný v Českej zbierke mikroorganizmov CCM v Brne (CZ): **CCM 9208**
- Bez hemolýza (α -hemolýza)
- Citlivý ku antibiotikám
- Neformuje biofilm
- Bez produkcie nežiaducich enzýmov
- Produkuje užitočný enzým β -galaktozidáza (10 nmol)
- Produkcia diacetylu, bez produkcie plynu, nie je lipolytický
- Toleruje žlč a nízke pH, Bezpečný (myši Balb/c, brojlerové králiky)



Lactiplantibacillus plantarum LP 17L/1

- Prítomnosť génov pre produkciu 10 plantaricínov (*pln* genes) (A, B, C, D, J,K,L, M, N, R)
- Inhibičná aktivita koncentrovanej substancie (CS) LP 17L/1 v AU/ml
 - Do 800 AU/ml proti kmeňu *E. avium* EA5; zo 63/**60** kmeňov bolo inhibovaných: anti-listeriálny and anti-stafylokokový efekt
 - Anti-parazitický efekt (*Trichinella spiralis*)
- LP17L/1 – rastie v bežných syroch so zvyčajným obsahom NaCl a tiež v kyslomliečnych fermentovaných dezertoch so zeleninovou zložkou
- Rastie dobre v rôznych typoch mlieka
- **PP 50021-2022:** LP17L/1 (**CCM 9208**) s kmeňom *L. lactis* MK1/3 (CCM 9209):
 - Kmene kyslomliečnych baktérií *L. lactis* MK1/3, *Lactiplantibacillus plantarum* LP17L/1, použitie uvedených kmeňov, spôsob výroby fermentovaného kozieho mlieka, výrobok vyrobený týmto spôsobom (9.12.2022 UPV SR) s VUM,a s. Žilina , 10. 7. 2024
Vo Vestníku, 17.9.2024-odpoveď na úplný prieskum

Bakteriocíny- postbiotiká

Postbiotiká sú definované ako produkty neživých mikroorganizmov a/alebo ich komponentov ktoré súvisia s prospešnosťou pre zdravie hostiteľa (Salminen et al. 2021).

Postbiotics

A postbiotic is a preparation of inanimate microorganisms and/or their components that confers a health benefit on the host.

COMPONENTS OF A POSTBIOTIC:

Postbiotics may contain intact inanimate microbial cells...



and/or microbial cell fragments/structures...



Cell walls, membranes, exopolysaccharides, cell-wall anchored proteins, pili, etc.

with or without metabolites/endproducts



Organic acids, peptides, secreted proteins, enzymes, bacteriocins, etc.

POSTBIOTIC:

- ✓ Derived from microorganisms, but a postbiotic does not have to be derived from a probiotic
- ✓ A deliberate process to terminate cell viability must be applied. The final postbiotic must contain inactivated microbial cells and/or metabolites or cell components
- ✓ Negligible number of viable cells remaining in final product
- ✓ Evidence of a health benefit in the target host
- ✓ Assessment of safety of the postbiotic preparation for the intended use

NOT POSTBIOTIC:

- ✗ Viruses, including bacteriophages
- ✗ Vaccines
- ✗ Filtrates without cell components
- ✗ Purified microbial components (e.g., proteins, peptides, exopolysaccharides)
- ✗ Purified microbial metabolites (e.g., organic acids)

THE POSTBIOTIC DEFINITION EXPLAINED:

Postbiotic is derived from "biotic", relating to living organisms, and "post", meaning after (life).

Preparation recognizes that the specific formulation, including microbial biomass, matrices, and inactivation methods, may play a role in the beneficial effect.

Inanimate recognizes that the terms 'dead' or 'inactive', may suggest an inert material, rather than a material capable of conferring a health benefit.

Components recognizes that health effects may be mediated by a variety of different cell parts or metabolites.



For more information visit [ISAPPscience.org](https://www.isappscience.org) or follow us on Twitter @ISAPPscience

© 2021, International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics

- **Mliekarenské produkty**
- Inovačná stratégia (One Health concept)-prospešné, bakteriocín-produkujúce kmene (antimikrobiálne substancie bielkovinového charakteru s inhibičným účinkom proti viac či menej príbuzným baktériám a kmene s prospešným účinkom)
- Suplementácia/fortifikácia produktov takým typom kmeňov-funkčné potraviny
- Aplikačná forma a stabilita kmeňa v produkte
- Enkapsulácia: lyofilizácia
- **LPa 12/1 a LP17L/1** (rifampicínom značený variant) –v 300 ml of MRS, 37° C
A600=1.0
- Skim milk (1:1) , zmrazené pri 80°C, lyofilizácia
- Zistenie počtu v lyofilizáte; riedené v Ringer. roztoku- MRS agar s rifampicínom (100 µl)
- Jogurty pre testovanie boli vždy rovnakej šarže dostupné z obchodnej siete od jedného výrobcu; **Kmene** (enkapsulované) - **10E7 KTJ/g** resp. **7. 28 KTJ/g/ml** (log10), jogurty skladované pri chladničkej teplote (4°C)



Prežívanie a stabilita kmeňov **LPa12/1** a **LP17L/1** v jogurtoch z kravského mlieka

	pHLPa12/1:LP17L/1	LPa12/1	KMPB	LP17L/1	KMPB
E/24 h	3.59 ± 0.10/nt	2.10 ± 0.00	4.76 ± 0.30	2.88 ± 0.20	7.08 ± 0.20
C/24 h	3.59 ± 0.10/nt	nt	nt	nt	7.10 ± 0.20
E/ Deň 7	3.70 ± 0.10 3.81 ± 0.10	2.36 ± 0.20**	6.10 ± 0.10	2.20 ± 0.20	10.10 ± 1.20
C/ Deň 7	3.77 ± 0.20 4.06 ± 0.30	nt	4.54 ± 0.10	nt	8.99 ± 0.20
E/Deň 10	3.80 ± 0.10 3.95 ± 0.20	4.78 ± 0.30*	6.10 ± 0.00	2.13 ± 0.00*	8.56 ± 0.20
C/Deň 10	3.90 ± 0.10 4.20 ± 0.30	nt	4.95 ± 0.10	nt	10.10 ± 0.20
E/Deň 14	3.60 ± 0.10 3.89 ± 0.20	4.72 ± 0.10	5.10 ± 0.00	nt	8.46 ± 0.45
C/Deň 14	3.60 ± 0.10 3.97 ± 0.20	nt	4.65 ± 0.20	nt	8.83 ± 0.20



10E7-
10E8
KTJ/g

Deň10/E/LPa12/1:Deň10/E/LP17L/1, p<0.05, Deň7/E/LPa12/1:Deň10/E LPa12/, p<0.01

Prežívania a stabilita kmeňov **LPa12/1** a **LP17L/1** v jogurtoch z kozieho mlieka



	pHLPa12/1:LP1 7L/1	LPa12/1	KMPB	LP17L/1	KMPB
E/24 h	3.04 ± 0.00/3.00 ± 0.30	4.78 ± 0.02	8.10 ± 0.00	4.78 ± 0.02	8.10 ± 0.00
C/24 h	3.06 ± 0.20/3.06 ± 0.20	nt	8.10 ± 0.00	nt	8.10 ± 0.00
E/Deň 7	2.99 ± 0.30/2.90 ± 0.10	6.56 ± 0.20	9.12 ± 0.80	6.60 ± 0.20	9.60 ± 0.20
C/Deň 7	2.61 ± 0.20/2.61 ± 0.20	nt	9.10 ± 0.00	nt	10.01 ± 0.00
E/Deň 10	2.90 ± 0.30/2.79 ± 0.10	7.45 ± 0.50	8.54 ± 1.20	7.52 ± 0.50	9.10 ± 0.00
C/Deň 10	2.80 ± 0.20/2.80 ± 0.20	nt	8.46 ± 1.10	nt	9.10 ± 0.00
E/Deň 14	3.01 ± 0.20/3.10 ± 0.20	6.93 ± 0.10	10.58 ± 1.21	6.93 ± 0.10	10.81 ± 0.30
C/Deň 14	2.58 ± 0.20/2.58 ± 0.20	nt	10.70 ± 1.50	nt	10.58 ± 1.21

Prežívanie a stabilita kmeňov **LPa12/1** a **LP17L/1** v jogurtoch z ovčieho-kozieho mlieka

pH	pHLPa12/1:LP17L/1	LPa12/1	KMPB	LP17L/1	KMPB
E/24 h	3.90 ± 0.40/4.10 ± 0.20	5.10 ± 0.00	5.10 ± 0.00	5.10 ± 0.00	6.10 ± 0.00
C/24 h	3.91 ± 0.40/4.10 ± 0.20	nt	4.61 ± 0.00	nt	5.10 ± 0.40
E/Deň 7	4.55 ± 0.40/4.21 ± 0.60	5.15 ± 0.10	6.10 ± 0.00	4.60 ± 0.10	5.10 ± 0.00
C/Deň 7	4.89 ± 0.50/4.05 ± 0.00	nt	4.54 ± 0.20	nt	5.10 ± 0.00
E/Deň 10	3.70 ± 0.20/4.25 ± 0.55	6.10 ± 0.10	6.10 ± 0.00	1.90 ± 0.00	4.30 ± 0.30
C/Deň 10	3.85 ± 0.90/4.20 ± 0.50	nt	4.95 ± 0.80	nt	4.47 ± 0.25
E/Deň 14	4.00 ± 0.20/3.85 ± 0.30	6.10 ± 0.10	6.10 ± 0.00	nt	4.47 ± 0.20
C/Deň 14	4.05 ± 0.35/4.06 ± 0.20	nt	5.10 ± 0.00	nt	4.65 ± 0.10

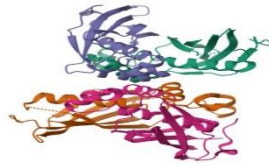


10E7-10E8
KTJ/g

Závery

- Obidva **post-bioticky aktívne** kmene laktobacilov dostatočne kolonizovali **všetky 3 typy jogurtov**.
- Obidva kmene dosiahli **najvyššie počty a stabilitu v jogurtoch z kozieho mlieka**.
- V kombinovanom jogurte boli ich počty takmer zhodné s počtami v jogurte z kozieho mlieka (s výnimkou poklesu u kmeňa LP17L/1 na 10. deň).
- V jogurtoch z kravského mlieka boli zaznamenané najnižšie počty obidvoch kmeňov, ale boli stabilné.
- Hodnoty pH neboli ovplyvnené.
- Jogurty z kravského mlieka sa javili štruktúrne stabilnejšie.
- Napriek tomu, že počty a stabilita kmeňov môžu byť ovplyvnené rôznymi faktormi (druhom kmeňa, formou aplikácie, typom produktu, a pod.) lyofilizácia ako najjednoduchšia forma enkapsulácie sa javí ako vhodná pre aplikáciu takýchto kmeňov v jogurtoch.

Reuben and Torres: Bacteriocins (postbiotics): potentials and prospects in health and agrifood systems. In Archives of Microbiology, 2024, 206:233.
<https://doi.org/10.1007/s00203-024-03948-y>



Country-specific bacteriocins related **research outputs (top 50): Slovakia has 23 position,**
Dominated position: USA, China, Spain, **behind SK** are e.g. Australia, Switzerland,
Portugal, Finland, Greece, Czech Republik

Ďakujem za pozornosť 😊