



M Ű E G Y E T E M 1 7 8 2

**Probiotikus kakaópor készítmény előállítása folyamatos üzemű
granulálási technológiával**

Tudományos Diákköri Dolgozat

Szerző:

Szeip Judit

I. évf., Gyógyszervegyész-mérnök MSc

Témavezetők:

Dr. Szabó Edina

tudományos munkatárs

BME Szerves Kémia és Technológia Tanszék

Dr. Nagy Zsombor Kristóf

tanszékvezető helyettes, egyetemi docens

BME Szerves Kémia és Technológia Tanszék

Dr. Hirsch Edit

tudományos munkatárs

BME Szerves Kémia és Technológia Tanszék

FirePharma kutatócsoport

BME Szerves Kémia és Technológia Tanszék

Budapest, 2024

Lezárás dátuma: 2025. 01. 07.

Tartalomjegyzék

Rövidítés jegyzék	3
1. Bevezetés	4
2. Irodalmi áttekintés	5
2.1. MIKROBIOM.....	5
2.2. PROBIOTIKUMOK ÉS PREBIOTIKUMOK.....	6
2.3 PROBIOTIKUS KÉSZÍTMÉNYEK ELŐÁLLÍTÁSA	8
2.4. KAKAÓ, MINT FUNKCIONÁLIS ÉLELMISZER	10
2.5. FOLYAMATOS GRANULÁLÁS	11
3. Célkitűzés	14
4. Felhasznált anyagok és kísérleti módszerek	15
4.1. FELHASZNÁLT ANYAGOK	15
4.1.1. Előhomogenizált kakaópor alapanyagai	15
4.1.2. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	15
4.1.3. A baktériumok szaporításához és növesztéséhez felhasznált anyagok.....	16
4.2. FOLYAMATOS GRANULÁLÁSHOZ HASZNÁLT GYÁRTÓSOR	17
4.2.1. Ikercsigás gravimetrikus adagoló.....	18
4.2.2. Ikercsigás granuláló berendezés	18
4.2.3. Folyamatos szárító	19
4.2.4. Folyamatos regranuláló	19
4.3. FOLYAMAT KÖZBENI VIZSGÁLATOK.....	19
4.3.1. Nedvességtartalom mérés	19
4.3.2. Termékhőmérséklet mérés.....	19
4.4. A GRANULÁTUMOK VIZSGÁLATA	19
4.4.1. Szemcseméret elemzés	19
4.4.2. Kifolyás vizsgálat	20
4.4.3. Tömörítés vizsgálat.....	20
4.5. BAKTÉRIUM TENYÉSZTÉS	21
4.5.1. Táptalaj és tápoldat készítés.....	21
4.5.2. Liofilizált baktérium törzs reaktiválása	21
4.5.3. Sejtbank készítés	21
4.5.4. Baktérium tenyésztés a granuláláshoz.....	21
4.5.5. Csíraszám meghatározás, lemezöntés.....	22
4.5.6. Optikai denzitás mérés	22
5. Eredmények és értékelésük	23
5.1. A KIINDULÁSI PORKEVERÉK ÉS GRANULÁLÁSÁNAK VIZSGÁLATA	23

5.2. FOLYAMATOS GRANULÁLÁS LEHETŐSÉGÉNEK VIZSGÁLATA	25
5.3. FOLYAMATOS GRANULÁLÁS PARAMÉTEREINEK OPTIMALIZÁLÁSA	27
5.3.1. Szárítási térfogatáram hatásának vizsgálata különböző L/S arányoknál	27
5.3.2. Termékhőmérséklet vizsgálata	29
5.4. <i>LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS</i> TARTALMAZÓ KAKAÓPOR GRANULÁLÁSA.....	31
5.4.1. A baktériumtörzs és a kakaópor komponenseinek vizsgálata	31
5.4.2. <i>Lactobacillus acidophilus</i> tenyésztése a sejtbankból.....	32
5.4.3. Probiotikus kakaó granulálása.....	33
6. Összefoglalás	37
7. Köszönetnyilvánítás	38
8. Irodalomjegyzék	39

Rövidítés jegyzék

WHO: (World Health Organization) Egészségügyi Világszervezet

FAO: (Food and Agriculture Organization of the United Nations) Élelmészeti és
Mezőgazdasági Világszervezet

SCFA: (short-chain fatty acids) rövid láncú zsírsavak

CFU: (colony forming unit) telepképző egység

API: (active pharmaceutical ingredients) hatóanyag

NIR: (near infrared) közeli infravörös

PAT: (process analytical technologies) folyamatfelügyelő és elemző technológiák

PE: polietilén

MRS tápoldat/táptalaj: De Man, Rogosa and Sharpe tápoldat/táptalaj

PBS: (phosphate-buffered saline) foszfáttal pufferolt sóoldat

rpm: (revolutions per minute) percenkénti fordulatszám

L/S: (liquid-solid ratio) folyadék-szilárd arány

ASTM: (American Society for Testing and Materials) szabványügyi szervezet

ρ_b : (bulk density) tömörítetlen halmazsűrűség

ρ_t : (tapped density) tömörített halmazsűrűség

OD: optikai denzitás

d(10), d(50), d(90): (diameter) az eloszlás 10/50/90%-a az adott szemcseméret átmérő alatt van

LBA: *Lactobacillus acidophilus*

1. Bevezetés

A probiotikus készítmények jelentősége folyamatosan nő napjainkban [1], ugyanis a szervezet mikrobiomjának rendben tartásával elkerülhető számos megbetegedés [2]. Az Egészségügyi Világszervezet (World Health Organization: WHO) és az Élelmiszerügyi és Mezőgazdasági Világszervezet (Food and Agriculture Organization of the United Nations: FAO) iránymutatása szerint probiotikumnak minősülnek azok a mikroorganizmusok, amelyek megfelelő mennyiségben kedvező hatással bírnak az emberre. A szervezet számára hasznos baktériumok egyszerű bejuttatása ezért már gyermekkorban is hasznos lehet többek között például antibiotikumos kezelés után. A probiotikumok beviteléhez azonban célszerű olyan készítményeket fejleszteni, melyek gyermekek számára is könnyen alkalmazhatók. Ilyen termékek lehetnek például a kakaópor alapú probiotikum-tartalmú készítmények.

Az instant kakaóitalok nagy népszerűségnek örvendenek a gyors és egyszerű elkészítésüknek köszönhetően, főleg a gyermekek körében [3]. Ezeknek a készítményeknek a legalapvetőbb összetevője a kakaópor. A kakaó az egyik legismertebb nyersanyag, intenzív illata és íze miatt, nem meglepő, hogy a gyerekek körében igencsak kedveltek a kakaó alapú italok. Azonban a kakaópor a benne található kakaóvaj és egyéb hidrofób összetevők miatt nagyon rosszul oldódik vízben és tejben egyaránt, ezért az instant kakaóitalok gyártási technológiája során a kakaópor nedvesíthetőségén és oldhatóságán javítani kell. Másrészt a kakaópor rossz porfolyási tulajdonságait is fontos kiküszöbölni az egyszerűbb adagolhatóság elősegítése végett. Az instant kakaóporok előállítására ezért számos technológia létezik, melyek mindegyikének fő célja az agglomerátumképzés a kakaószemcsékből, így javítva a porfolyási tulajdonságokon. A legtöbb ilyen technológia szakaszos üzemű, azonban az élelmiszeriparban sokkal gyakoribbak már a folyamatos gyártási technológiák, melyeknek számos előnyük van, mint például az energiahatékonyság, robusztusság vagy a költséghatékonyság. A granulálás egy megfelelő technológia lehet a porok tulajdonságának javítására, továbbá megvalósítható folyamatos üzemen is.

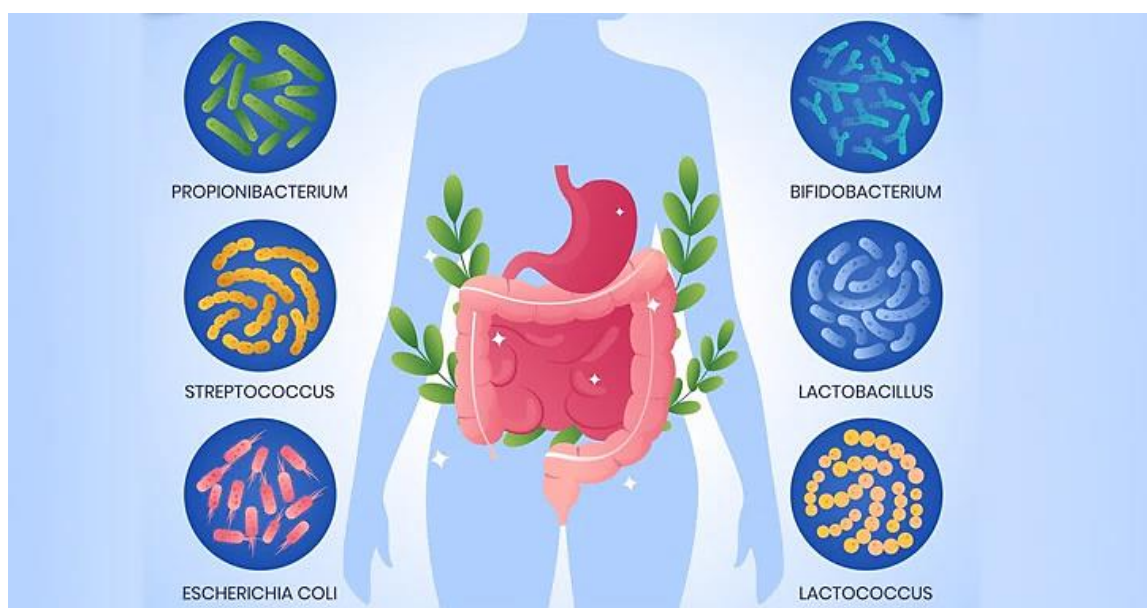
A kutatásom célja volt egy probiotikus kakaópor előállítása folyamatos üzemű granuláló gyártósoron. Kísérleteim során a bélflóra működését segítő *Lactobacillus acidophilus* törzset választottam a kakaóba való integráláshoz. Ez a probiotikus baktérium tejsavat termel, így képes csökkenteni a környezete pH-ját és ezáltal gátolja a kórokozók elszaporodását. A mikroorganizmust a granuláló folyadékba szuszpendálva terveztem elvégezni a granulálást, így kapva probiotikus kakaóport. Kutatási célom sikeres elérése nagyban hozzájárulhat ahhoz, hogy a gyermekek számára elérhető probiotikus készítmények portfóliója fejlődhessen.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Mikrobiom

Az emberi testen és benne élő mikroorganizmusok jelentős hatással vannak az egészségünkre, az anyagcsere folyamatoktól egészen az immunitásig [2]. A mikrobióták és a gazdaszervezet közötti szoros kapcsolatok tanulmányozása fontos lehet egyes megbetegedések elleni küzdelemben. Mikrobiótáknak nevezzük az emberi test sokszínű közösségét, a szimbiotikus, kommenzalista és kórokozó mikroorganizmusokat. A mikrobiom pedig úgy értelmezhető, mint az adott környezetben élő mikrobióták [4]. Ezek a bakteriális, vírusos és eukarióta közösségek nagy számban előfordulnak az emberi testen és testben, többek között a bőrön és a bélrendszerben. Számuk közel 100 trillió, és erős szimbiotikus kapcsolatban állnak a gazdaszervezettel [5]. Több, mint tízszer annyi baktérium található a szervezetben, mint emberi sejt. A legnagyobb közössége, közel 95%-a ezeknek a mikroorganizmusoknak mind a bőség, mind a sokféleség tekintetében a bélrendszerben található.

A szervezet egészséges működéséhez elengedhetetlen, hogy a bélflórában egyensúlyban legyenek az úgynevezett „rossz” és „jó” baktériumok (1. ábra) [6]. A „rossz” baktérium törzseknek általában különböző tápanyagok lebontásában van szerepük, azonban túlzott mennyiségük káros folyamatokat indíthat el. Ezzel szemben a „jó” baktériumoknak szinte csak előnyös tulajdonságaik vannak, mint például gátolhatják különböző kórokozók megtapadását vagy javíthatják az immunválaszt, így gyakran érdemes plusz mennyiségeket bevinni a szervezetbe.



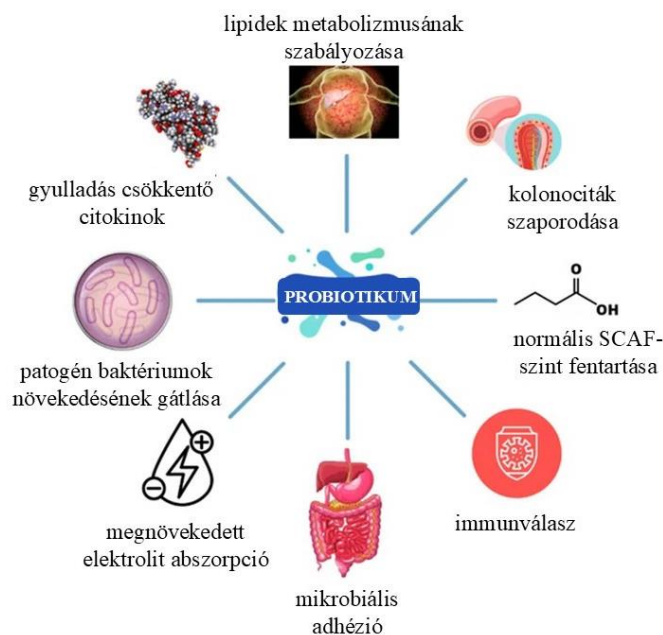
1. ábra: A bélrendszerben megtalálható „rossz” (bal) és „jó” (jobb) baktérium törzsek [6]

A bélrendszer mikrobiomja és így a bélflóra egyensúlya a születés során kezd el kialakulni [2]. Az, hogy mely baktériumok szaporodnak el a bélrendszerben, többek között függ a világra jövetel módjától is (vaginális vagy császármetszéses). A hüvelyi szülés olyan bélpopulációt indukál, amely az anyai hüvelyi flóra mikrobiomját tükrözi, míg a császármetszéssel született csecsemők körében az anyai bőr- és szájflóra, illetve a környezet a domináló [4]. Továbbá az anyatej is rengeteg baktériumot tartalmaz, ami tovább formálja a csecsemő bélflóráját. A mikrobiom csecsemőkorban még igen képlékeny, az évek során pedig folyamatosan változik, táplálkozásbéli szokások, antibiotikum kúra is formálhatja a bélrendszerben előforduló mikroorganizmusok közösségét [2].

A bél mikrobiomja továbbá kulcsszerepet játszik az energiatermelésben is, olyan vegyületekből állít elő energiát, amelyek a felső gyomor-bél traktusban nem kerülnek lebontásra. Továbbá a bélrendszer immunrendszerének stimulálása vagy alapvető vitaminok biztosítása is fő feladata [7]. A bélrendszerben megtalálható baktériumoknak nagy szerepük van a metabolikus folyamatokban is. A bélflóra mikrobiomja a szervezetbe bejutatott élelmi rostokat rövid láncú zsírsavakká (SCFA = short-chain fatty acids) alakítja át, amelyek közé tartozik az ecetsav, a propionsav és a vajsav. Az SCFA-knak sokféle jótékony hatása van a szervezetre, például a butirát (deprotonált vajsav) az elsődleges energia forrása a vastagbél hámsejtjeinek, és növeli a bélnyálkahártya integritását is.

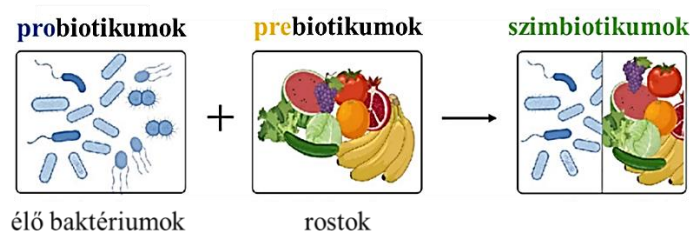
2.2. Probiotikumok és prebiotikumok

Az előző fejezetben már tárgyalt „jó” baktériumok szervezetbe juttatására különböző probiotikus és prebiotikus termékek lehetnek alkalmasak. A WHO és az FAO szerint probiotikumok élő mikroorganizmusok, amelyek megfelelő mennyiségben kedvező hatással bírnak az emberre [5,8]. Az Nemzetközi Tejipari Szövetség (International Dairy Federation) napi 10^6 - 10^7 CFU/ml vagy CFU/g probiotikum tartalmú étel fogyasztását ajánlja [5]. Az angol „colony forming unit” kifejezés rövidítéséből származó CFU az életképes sejtek számát becsüli. A megfelelő, jótékony hatású baktériumok napiszintű bejuttatása a szervezetbe igen kedvező hatással van a bélrendszer mikrobiomjára. Többek között az antibakteriális anyagok termelése, versenyképes kórokozók kizárása, a bakteriális adhézio egyidejű elnyomása és az immunrendszer modulálása a probiotikumok néhány fő hatásmechanizmusa (2. ábra) [4]. A probiotikumok természetes forrása főleg tejtermékekből, fermentált ételekből származik, mint például a joghurt, sajt, kefir, savanyúkáposzta stb., de léteznek különböző táplálék kiegészítők (kapszulák, porok, folyadékok), illetve funkcionális élelmiszerek is, amikbe mesterségesen juttatnak probiotikumokat.



2. ábra: A probiotikumok jótékony hatásai [4]

Azonban nem csak a probiotikumok bejuttatására van szükségünk, hanem ezeknek a jótékony hatású baktériumok számára elengedetlen táplálékokra, az úgynevezett prebiotikumokra is [9]. A prebiotikumok nem élő szervezetek, hanem például rostok, nem emésztődnek meg a vékonybélben, így eljutnak a vastagbélbe, ahol elősegítik a probiotikumok szaporodását. Továbbá ennek következtében SCFA-k termelődnek, amik csökkentik a bél pH-ját, így megakadályozva a patogén kórokozók megtelepedését. Ezen felül a képződő SCFA-k nemcsak energiaforrást biztosítanak a vastagbél nyálkahártyája számára, hanem gátolják is a gyulladásos reakciókat. A legfontosabb prebiotikumok a fruktooligoszacharidok (inulin) és a galaktooligoszacharidok, ezek forrása például a búza, zabpehely, banán, babfélék, tej, méz. A probiotikumokat és a prebiotikumokat együttesen szimbiotikumoknak nevezzük (3. ábra). A legalapvetőbb szimbiotikum az maga az anyatej.



3. ábra: A szimbiotikumok [10]

A legegyszerűbben különböző tejtermékek fogyasztásával lehet megfelelő probiotikumokat bejuttatni az emberi szervezetbe [11]. Azonban a tejtermékeknek sok hátránya is lehet, például

tárolásuk hűtést igényel, rövid az eltarthatóságuk. Ezen kívül okozhatnak magas koleszterinszintet, és az egyre növekedő laktóz érzékenyek számára is problémát jelenthet a fogyasztásuk. Így tehát nem meglepő, hogy növekszik az igény másfajta probiotikus készítmények kifejlesztésére. Az ilyen termékek fejlesztése nehéz, mivel orális bejuttatás esetében a probiotikumoknak túl kell élnie az extrém körülményeket az emésztés során, például gyomorsav és emésztőenzimek hatását [5].

Probiotikus és prebiotikus termékekben gyakran találhatunk különböző *Lactobacillus* törzseket, melyek bizonyítottan probiotikus tulajdonságokkal rendelkeznek, és pozitív hatásuk van az anyagcserére, valamint védő hatást fejthetnek ki a bélflórában [7]. Ezek a törzsek az emésztés számára hasznos SCFA-k termelésében is részt vesznek. Továbbá védelmet nyújtanak a patogén baktériumok ellen, a bélrendszer pH-jának csökkentésével, emellett pedig beindíthatják a bélnyálkahártya immunreakcióját is, ha kórokozót érzékelnek. Ezenkívül jótékony hatással vannak egyes gyomor-bélrendszeri megbetegedésekre, mint az irritábilis bél szindróma, hasmenés, allergiás reakciók, inzulin rezisztencia, sőt a szájüregi egészségre, és az agy egészségére is befolyással vannak [4].

A *Lactobacillus* törzsek közül kiemelhető a probiotikus készítményekben nagyon népszerű *Lactobacillus acidophilus* faj, melyet sokszor használnak hasmenés elleni szerekben, de csökkenti az irritábilis bél szindróma tüneteit, csökkenti a citokinek mennyiségét, így enyhíti a gyulladásos bélbetegségeket, hatással van az immunrendszerre és csökkenti a koleszterinszintet. Továbbá kimutatták, hogy enyhíti a laktózérzékenység tüneteit gyermekeknél, és segít a húgyúti fertőzések kezelésében [11]. A *Lactobacillus acidophilus* megtalálható az emberi vastagbélben, bélben és a vaginában, illetve a joghurtban, erjesztett élelmiszerekben, kenyérben, borban, gabonafélékben (pl.: zab, korpa, teljes kiőrlésű gabonafélék).

2.3 Probiotikus készítmények előállítása

A probiotikus készítmények formulálása nehéz, hiszen a baktériumoknak, amit a készítménybe szeretnénk integrálni, életképeseknek kell maradniuk a gyártási folyamat végére, sőt túl kell élniük az emberi emésztőrendszer kihívásait is, hogy eljuthassanak a gyomor utáni béltraktusokba és kifejthessék jótékony hatásukat [7]. A probiotikum életképességét számos tényező befolyásolja mind a gyártási folyamat, mind a tárolás során, mint például a hőmérséklet, oxigén koncentráció, páratartalom, nyomás [12]. Továbbá a tárolás során is meg kell őrizniük a minimum 10^6 CFU/g értéket [7]. Ahhoz, hogy jó minőségű probiotikus készítményt gyárthassunk, fontos a megfelelő baktérium törzs kiválasztása. Célszerű olyan

törzset választani, ami ellenáll a gyomorsavnak és az epének, továbbá képes alkalmazkodni a gyártásból, tárolásból és bevételből származó stressz körülményekhez.

Magában már a megfelelő élelmiszer mátrix kiválasztása lehetővé teheti a baktériumok túlélését, azonban ezt elősegíthetjük számos technológiai lépéssel, ilyen lehet például a mikrokapszulázás [7]. Ennek során a baktériumot egy olyan anyaggal vonják be, ami csak bizonyos körülmények között válik oldhatóvá és ereszt ki a tartalmát, például a baktériumokat. Így a mikrokapszulák megvédik a probiotikumokat a feldolgozás és tárolás során, és lehetővé teszik, hogy a metabolikus folyamatok során szabaduljanak fel az emberi bélben [5]. Az élelmiszeriparban ilyen bevonóanyagok a baktériumok mikrokapszulázásához tartalmaznak valamilyen proteint (pl.: zselatin, tejsavó fehérje), poliszacharidokat (pl.: kitozán, pektin) és fruktooligoszacharidokat vagy ezeknek a keverékét.

Kiemelendő, hogy a probiotikus baktérium törzsek eltarthatósága szilárd állapotban stabilabb [13]. A szilárd formulálás kiválasztása, körülményei is fontosak a baktériumok túlélésének szempontjából [14]. Különböző módszerek ismertek a szilárd forma kialakítására, mint például a porlasztva szárítás, a fagyasztva szárítás, a fluidágyas szárítás, vagy akár az elektrosztatikus szálképzés is [15].

Az irodalomban sok példa található különböző módon előállított probiotikum tartalmú készítményekre. Például gyümölcslevekbe, italporokba integrált baktériumok, kiváló alternatívái lehetnek a probiotikumban gazdag tejtermékeknek [16]. A leggyakoribb eljárás előállításukra a mikrokapszulázás, melyet sokszor kombinálnak porlasztva szárítással vagy liofilizálással is.

Továbbá állítottak már elő nedves granulálással pezsgőgranulátumot *Lactobacillus acidophilus*-ból [17]. A szakaszos gyártási technológia során egy mozsárban masszává gyúrták az alapanyagot, majd szitálási és szárítási lépések következtek. Ugyancsak a *Lactobacillus acidophilus* túlélését vizsgálták egy kutatásban különböző kötőanyagokkal (akácia, nátrium-alginát) végezve a nedves granulálását [18]. Továbbá állítottak elő fluidágyas granulálással is *Lactobacillus rhamnosus* baktériumot tartalmazó granulátumokat sovány tejpor hozzáadásával [19].

Az irodalomban azonban kevés a kifejezetten gyermekek számára fejlesztett funkcionális élelmiszerekről szóló kutatás. Ezt figyelembe véve fontos lehet egy olyan termék kifejlesztése, ami finom, könnyen adagolható és egyszerű az elkészítése. A különböző probiotikus gyümölcslevek vagy italporok megfelelő készítmények lehetnek a gyermekek számára is.

2.4. Kakaó, mint funkcionális élelmiszer

A kakaó, mint probiotikus baktériumok élelmiszermátrixa [20] kiváló választás lehet egy kifejezetten gyermekek számára fejlesztett készítményhez. A kakaó az egyik legismertebb nyersanyag a világon, ami nem meglepő, hiszen rendkívül erős illata, aromája és íze van így a gyermekektől az idősekig mindenki szívesen fogyasztja valamilyen formában.

Nem mellesleg a kakaónak számos egészségügyi előnye is van, sok bioaktív összetevőt tartalmaz, mint például a flavonoidokat és a metilxantinokat, amik kiváló antioxidánsok [3]. Sőt egyes betegségekre is jótékony hatással lehet a kakaó fogyasztása, például a vérszegénység, szellemi fáradtság, láz és köszvény, továbbá egyes tanulmányok szerint megakadályozza egyes karcinogének kialakulását, csökkenti a magas vérnyomás előfordulását és gyulladáscsökkentő hatása is van.

A kakaóport a kakaófa terméséből a kakaóbabból gyártják fermentálás, szárítás, pörkölés, és a kakaóvaj extrahálása során. Általában zsírszegény kakaóporokat (8-10% kakaóvaj tartalom) használnak a különböző élelmiszeripari termékek előállításához [3]. Ezt követően a kakaóport különböző technikákkal tovább alakítják. Ilyen lehet az alkalizálás (lúgosítás), vagy agglomeráció képzéses technikák. Ezek azért fontosak, mert alapvetően a kakaópornak rossz a porfolyási tulajdonsága és a vízzoldhatósága, amik ezekkel a technológiákkal javíthatók. A kakaó rossz oldhatósága abból fakad, hogy sok vízzoldhatatlan komponenst tartalmaz, mint a kakaóvaj, polifenolok, proteinek, amik a kakaó jellegzetes színét és ízét adják.

A kakaópor és a kakaóbabból előállított szintén gyakori termék, a csokoládé megfelelő mátrixot biztosíthat probiotikumok számára, így létrehozhatók különböző probiotikus készítmények. A kakaópor protein, poliszacharid és lipid összetevői megfelelő alapanyagai lehetnek a baktériumok mikrokapszulázásának, többek között a *Lactobacillus acidophilus*-nak [5]. Md Nur Hossain és társai kutatása során beigazolódott, hogy a kakaópor nátrium-algináttal és fruktooligoszachariddal együtt potenciálisan felhasználható probiotikumok kapszulázó anyagaként, és a csokoládé kiváló hordozóanyaga lehet ennek. Továbbá készítettek már tej- és étcsokoládéba integrált probiotikus törzseket tartalmazó készítményt is, melyeknél a csokoládé készítés során a temperálás után a 30-32 °C-os megolvadt masszához keverték hozzá a baktérium szuszpenziót [11]. A csokoládé megfelelő védelmet biztosít a baktériumoknak az emésztőrendszeri behatásokkal szemben, ezt bizonyították S. Possemiers és társai is [7]. Giovanni Ricci kutatása során tejtermékből izolált fagyasztva szárított *Lactobacillus* fajokat kevert hozzá kakaópor mátrixhoz és vizsgálta a probiotikumok életképességét [21]. Ezek a

kutatások alátámasztották, hogy a kakaópor jó médium a probiotikus törzsek integrálására, mert flavonoidokban, antioxidánsokban gazdag.

A leggyakoribb esetben a kakaót, mint szuszpenzió, italként fogyasztják. Ezek a kakaó alapú italporok nagy népszerűségnek örvendenek egyszerű elkészítésüknek és finom ízüknek köszönhetően. Léteznek különféle instant kakaóital-porok, amit vízzel vagy tejjel kell elkészíteni [3]. Alapvető összetevőjük a kakaópor, de legnagyobb hányadban cukrot tartalmaznak a keserű íz elfedése, a textúra javítása végett. Illetve a cukor tartósítja a terméket, és javít az oldhatóságán is [3]. Továbbá megtalálhatók bennük különböző stabilizátorok, emulgeálószer, vitaminok, ásványi anyagok is. Magyarországon talán a legismertebb márka a Nesquik kakaópor [22]. A Nesquiket Magyarországon a szerencsi üzemben gyártják egy Vibra Schulthies márkájú fluidágyas berendezésen [23,24]. Ez az agglomerációs technológia vízgőzzel működik, kifejezetten instant kakaópor gyártásra kifejlesztett eljárás. Áll egy előkészítési lépésből, ahol a száraz hozzávalók összemérése történik, a következő lépés a fluidizáció, ahol forró levegőárammal fluidizálják a részecskéket. A harmadik lépésben a vízgőz beinjektálása történik, majd a nukleáció és az agglomeráció képződés, ezt követően a granulátumok növekedési lépése, és végül a szárítás és a szitálás.

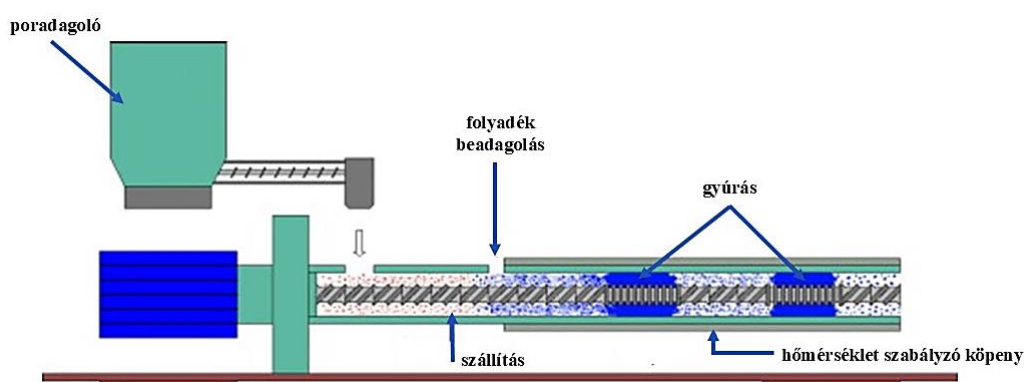
Mint látható, az irodalomban léteznek már különböző kakaó alapú probiotikus termékek, azonban ezeknek a gyártási technológiája még fejlesztésre szorul. Egy hatékony, nagyüzemben is megvalósítható gyártási technológia kidolgozása hiánypótló lehet kakaó alapú probiotikus készítmény gyártására, mely technológia elkerüli a forró vízgőz/levegő használatát.

2.5. Folyamatos granulálás

A folyamatos gyártási eljárások az élelmiszeriparban gyakran használatosak robusztusságuk, energiahatékonyságuk és költséghatékonyságuk végett [25]. A szilárd porok, mint például az előző fejezetben is említett kakaópor porreológiai tulajdonságainak javítása céljából a granulálás egy ígéretes technológia lehet. Egyszerű és hatékony módszer, amely folyamatos üzemben is megvalósítható.

A granulálás célja többek között a porok gördülékenységének, adagolhatóságának javítása, fajtázódásának megakadályozása [26]. Több típusa van, az egyik az úgynevezett száraz granulálás, ennek során nem használnak kötőanyagot, préseléssel képeznek agglomerátumokat. Az olvadékg granulálás során magas hőmérsékletet alkalmaznak, így az adott hőmérsékleten megolvadó kötőanyag hatására történik granulátum képzés, míg a nedves granulálás során valamilyen granuláló folyadék hatására megy végbe a folyamat.

A kutatómunkám során nedves granulálással foglalkoztam, így a következőkben ezt a technológiát részletezem. Itt a finom porszemcséket a granuláló folyadék tapasztja össze nagyobb aggregátumokká. Először a por nedvesítése történik, majd a magképződés, növekedés, végül a szárítási lépés [26]. A nedves granulálás legkritikusabb paramétere a folyadék szilárd anyagarány (L/S: liquid-solid ratio), azonban változtatása jól és gyorsan nyomon követhető a granulátumok minőségén, tekintettel a granulálóban való rövid tartózkodási időre [25,27]. A gyógyszeriparban legtöbbször szakaszos módon történik a granulátumok előállítása. Szakaszos módban megvalósítható örvényáramú granuláló berendezésben, fluidizációs berendezésben vagy porlasztva szárítással [26]. Azonban a nedves granulálás folyamatos üzemmódban is kivitelezhető, például ikercsigás granuláló berendezésekkel (4. ábra) [25,27]. Ebben az esetben a csigakonfiguráció megválasztása is hatással lehet a granulátumok minőségére. Sokféle összeállítás ismert az irodalomban, a csigakonfiguráció többek között állhat például szállító szegmensekből, gyúró szegmensekből, valamint méretszabályozó szegmensekből.



4. ábra: Példa egy ikercsigás granuláló berendezésre [27]

Az ikercsigás granuláló berendezések nagy előnye, hogy használható egyaránt kis- és nagy léptékben is, így alkalmazhatóvá válik a technológia a gyógyszeriparban is. A genti egyetemen J. Vercruysse és társai összehasonlították az ipari léptékű, ConsiGmaTM-25 [28] berendezés által gyártott granulátumok minőségét a laboratóriumi méretű gyártósor, a ConsiGmaTM-1 berendezésen [29] gyártottakkal, és azt tapasztalták, hogy összehasonlítható eredményeket kaptak a termékminőséget illetően. Tehát a folyamatos nedves granulálás előnye, hogy könnyen méretnövelhető, illetve folyamat közben is ellenőrizhetők a gyártási paraméterek, robosztus és költséghatékony technológia.

A kutatócsoportunk által fejlesztett integrált granuláló-száritó-örlő gyártósor is jellemezhető az előző bekezdésben ismertetett folyamatos technológiák előnyeivel [31]. A gyártás sebessége növelhető, akár 0,5-15 kg/h-ás adagolással is képes a granulálásra [30], így a technológia relevánssá válik ipari megfontolásokra is. Alkalmazható nedves granulálásra és olvadék

granulálásra is, mert az ikercsigás granuláló fűthető [30]. Ezen kívül hozzákapcsolhatók PAT eszközök, például egy NIR szonda, ami valós idejű nedvességtartalom meghatározásra alkalmas [31]. Továbbá ez a gyártósor alkalmasnak bizonyult egy hőérzékeny baktérium granulálására is [32], mely igazolja, hogy megvalósíthatóvá válhat akár a kakaópor alapú probiotikus készítmény előállításának hatékony gyártási technológiája is. Mindezek alapján gyermekek számára előállított kakaópor alapú probiotikus készítmény hatékony gyártására tehát megfelelő technológia lehet a folyamatos üzemű nedves granulálás.

3. Célkitűzés

A szakirodalmi áttekintés rávilágított arra, hogy a probiotikumokat és prebiotikumokat tartalmazó készítményeknek egyre nagyobb jelentősége van napjainkban. Kihívást jelenthet azonban, hogy a gyermekek számára is kedvező készítményeket állítsunk elő. Számos publikáció jelent meg arról, hogy csokoládéba, vagy kakaóporba integrálnak baktériumtörzseket, ami bebizonyította, hogy a kakaópor megfelelő mátrixa lehet egy probiotikus készítménynek. Azonban hatékony, nagy mennyiség előállítására képes, iparilag alkalmazható kéméletes gyártástechnológiák ezidáig kevésbé jelentek meg a szakirodalomban.

Mindezeket figyelembe véve kutatómunkám fő célja volt egy kifejezetten gyermekek számára elérhető, kakaópor alapú probiotikus granulált italpor kifejlesztése. Ennek megvalósításához célul tűztem ki egy hatékony gyártási technológia kidolgozását, melyhez egy integrált, folyamatos üzemben működtethető, nedves granuláláson alapuló gyártósort választottam.

Célom volt a kiindulási kakaóport megfelelő granulátumokká alakítani, ezzel javítva a kakaópor rossz porreológiai és oldódási tulajdonságain. Fontos volt, hogy megtaláljam azokat az optimális beállításokat a gyártáshoz, amik alkalmasak lehetnek egy hőérzékeny mikroorganizmus granulálására is, mivel szerettem volna a *Lactobacillus acidophilus* baktériumot integrálni a folyamatba. A *Lactobacillus*ok ugyanis elterjedten használatosak különféle probiotikus készítményekben számos jótékony hatásuk miatt, ezért célul tűztem ki a *Lactobacillus acidophilus* baktériumnak a bejuttatását a kakaó granulátumokba.

4. Felhasznált anyagok és kísérleti módszerek

4.1. Felhasznált anyagok

4.1.1. Előhomogenizált kakaópor alapanyagai

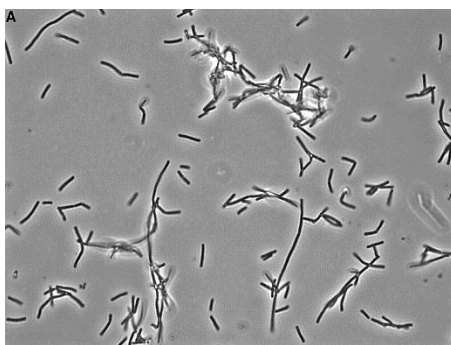
A granulálási kísérletekhez használt kakaópor előhomogenizátum összetételét a Nesquik kakaó publikus adatai alapján határoztam meg [22]. A pontos koncentrációkat az 1. táblázatban foglaltam össze. A megfelelő mennyiségű alapanyagokat kimértem, majd egy polietilén (PE) zsákban 5 percig homogenizáltam. Amennyiben szükséges volt a porcukrot és a kakaóport előtte átszitáltam.

1. táblázat: Az általam készített kakaópor összetevői

Összetevők	koncentráció (m/m%)
Porcukor (Koronás cukor)	75
Zsírsegevény kakaópor (Aro)	23
Szójalecitin (Life Extension)	1,07
Só (NaCl) (Merck)	0,41

4.1.2. *Lactobacillus acidophilus*

A baktérium törzset liofilezett állapotban kaptam a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteménye (Budapest, Magyarország) jóvoltából. A *Lactobacillus acidophilus* (5. ábra) egy jótékony hatású baktérium, hozzájárul a bélflóra egyensúlyának fenntartásához. Tejsavat termel, ezzel csökkentve a bélrendszer pH-ját, gátolva a káros mikroorganizmusok elszaporodását, továbbá elősegíti az emésztést.



5. ábra: *Lactobacillus acidophilus* mikroszkóp alatt [33]

4.1.3. A baktériumok szaporításához és növesztéséhez felhasznált anyagok

Táptalaj, tápoldat:

Az általam választott probiotikus törzs, a *Lactobacillus acidophilus* tenyésztéséhez egy tipikusan a Lactobacillusokra szelektív táptalaj az ajánlott. A De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) által kidolgozott táptalaj és tápoldat Lactobacillusok tenyésztésére specifikus [34]. Illetve a csoportunkban már dolgoztak ezzel a törzzsel, és az MRS táptalaj és tápoldat (Biolab) megfelelőnek bizonyult [32,35,36]. A táptalaj és a tápoldat összetevőit a 2-3. táblázat tartalmazza.

2. táblázat: MRS tápoldat (De Man, Rogosa and Sharpe) összetétele

Összetevők	koncentráció (g/l)
Kazeinpepton	10
Húskivonat	10
Élesztőkivonat	5
Glükóz	20
Nátrium-acetát x 3 H ₂ O	5
Ammónium-citrát	2
Magnézium-szulfát x 7 H ₂ O	0,2
Magnézium-szulfát x 4 H ₂ O	0,005
Kálium-hidrogénfoszfát	2
Tween80	1,08

3. táblázat: MRS táptalaj (De Man, Rogosa and Sharpe) összetétele

Összetevők	koncentráció (g/l)
Kazeinpepton	10
Húskivonat	10
Élesztőkivonat	4
Glükóz	20
Nátrium-acetát	3
Ammónium-citrát	2
Magnézium-szulfát x 7 H ₂ O	0,2
Magnézium-szulfát x 4 H ₂ O	0,005
Kálium-hidrogénfoszfát	2
Tween80	1,08
Agar	14,75

PBS-oldat:

A baktériumok tenyésztése után, a leszűrt törzseket PBS-oldatba vettem fel. Az így kapott szuszpenzió volt a granuláló folyadék a kakaópor gyártása során. Továbbá a [csíraszám meghatározásnál](#) a hígítási sor elkészítéséhez is PBS-oldatot használtam. A PBS-oldatot ultratiszta vízzel készítettem el (4. táblázat).

4. táblázat: PBS-oldat összetevői

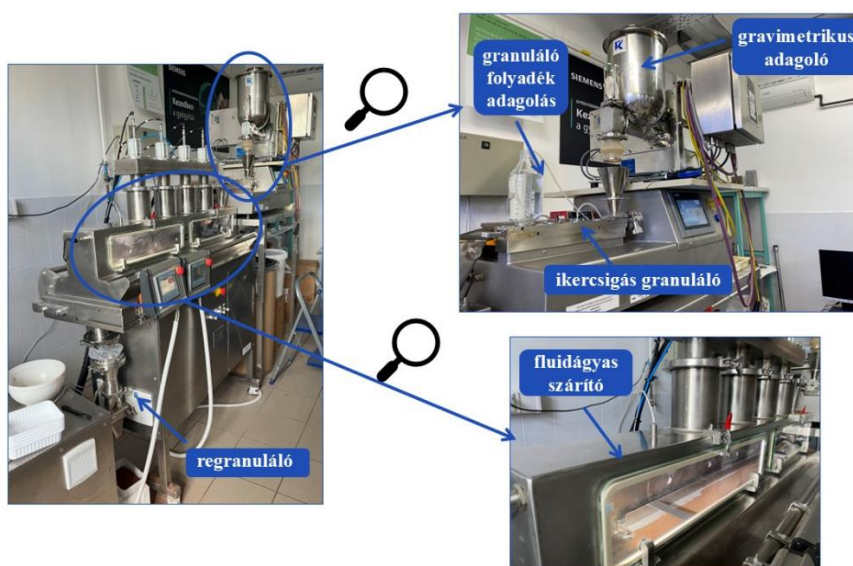
Összetevők	koncentráció (g/l)
Nátrium-hidrogénfoszfát	1,15
Kálium-dihidrogénfoszfát	0,2
Nátrium-klorid	8,0
Kálium-klorid	0,2

Sejtbank készítéshez használt anyagok:

Az MRS tápoldatba beoltott *Lactobacillus acidophilus* törzsből [sejtbankot](#) készítettem, amihez glicerint adtam, -80 °C-os fagyasztóban való tárolás végett.

4.2. Folyamatos granuláláshoz használt gyártósor

A kakaópor készítményt a kutatócsoportunk által fejlesztett folyamatos granuláló gyártósoron készítettem (6. ábra). A gyártósor a következő készülékekből áll: ikercsigás gravimetrikus adagoló, ikercsigás granuláló, folyadék adagolására használt perisztaltikus pumpa, folyamatos szárító és folyamatos regranuláló.



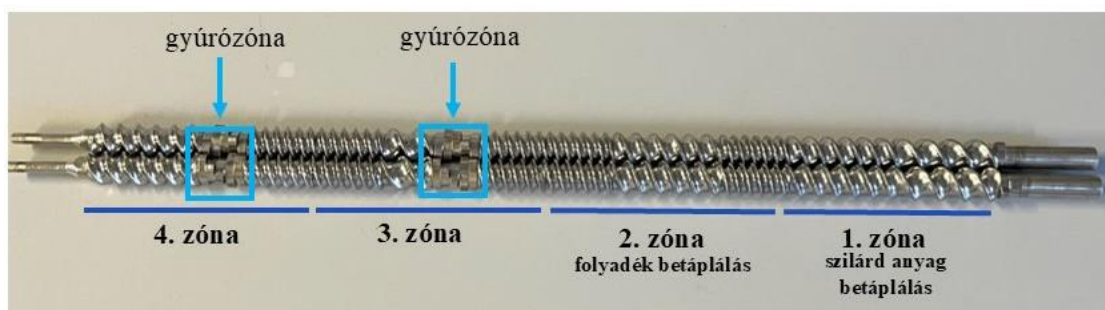
6. ábra: A folyamatos granuláló gyártósor

4.2.1. Ikercsigás gravimetrikus adagoló

Egy ikercsigás gravimetrikus adagolót (K-SFS-24 típusú K-tron adagoló, Duisburg, Németország) használtam a kakaópor előhomogenizátum adagolásához. A kiindulási porkeveréket kézi homogenizálás után töltöttem be az adagolóba. A gyártás megkezdése előtt mindig lefuttattam rajta egy automatikus kalibrációt, majd ezt ellenőriztem úgy, hogy egy meghatározott ideig (1 percig) mintát vettem, majd lemértem a tömegét és kiszámoltam, hogy tényleg a beállított sebességgel adagol-e. A kísérletek során 1 kg/h tömegáramot alkalmaztam.

4.2.2. Ikercsigás granuláló berendezés

Ikercsigás granuláló berendezésen (TS16 QuickExtruder, Tiszavasvári, Magyarország) végeztem a granulálást. A granuláló folyadék desztillált víz volt a placebo (baktérium nélküli) kísérletek során. Későbbiekben a baktérium formulációnál, már PBS-oldatban szuszpendált *Lactobacillus acidophilus* oldatot használtam granuláló folyadékként. A gravimetrikus adagoló a granuláló első zónájába adagolta a szilárd porkeveréket, a granuláló folyadékot a második zónába vezettem be egy perisztaltikus pumpa (a Watson-Marlow 120U, Wilmington, MA, USA) segítségével. A pumpát minden kísérlet előtt kalibráltam, hogy a granuláló folyadék pontos tömegáramát meg tudjam határozni. A szilárd anyagáramot 1 kg/h értékre, a granuláló csigafordulatszámát 200 rpm-re (percenkénti fordulatszám: revolutions per minute) rögzítettem. A granuláló folyadék tömegáramát az egyes kísérletek során változtattam az egyes folyadék-szilárd arányoknak (L/S) megfelelően. Az ikercsigás granuláló mind a négy zónájának a hőmérséklete 25 °C-ra volt beállítva, továbbá a csigakonfigurációja (7. ábra) megegyezett az összes kísérlet során. A csiga tartalmazott szállító elemeket, melyek közül a nagyobb menetemelkedésűek a szilárd, illetve a folyadék betáplálási szakaszokban és a gyúrozónák után voltak. Továbbá a 3. és 4. zónában gyúró elemeket építettem be a hatékony gyúras és az agglomerátum képződés megvalósítása érdekében.



7. ábra: Az ikercsigás granulálás során alkalmazott csigakonfiguráció

4.2.3. Folyamatos szárító

Egy folyamatos üzemű horizontális fluidágyas szárítón (Quick 2000 Ltd., Hungary) szárítottam a granulálóból érkező még nedves granulátumokat. A perforált fém szalag állandó vibrálás (40 Hz) mellett szállította négy zónán keresztül a mintákat. Mindegyik zónában állítható volt a hőmérséklet és a levegőáram is, ezeknek értékét az egyes kísérletek során változtattam 60-100 °C, illetve 120-180 l/perc között.

4.2.4. Folyamatos regranuláló

A száraz granulátumok egy oszcillációs őrlőbe (QUICKmill Lab multifunkcionális őrlőberendezés, Quick 2000 Ltd., Hungary) estek a szárító berendezés után. Az őrlést egy 0,8 mm átmérőjű szitabetéttel végeztem 200 oszcilláció/perc sebességgel.

4.3. Folyamat közbeni vizsgálatok

4.3.1. Nedvességtartalom mérés

A granulátumok nedvességtartalmát általában egy szárításiveszteség-mérő (Sartorius MA40 típusú nedvességtartalom mérő) segítségével vizsgáltam. A szárítási program 20 perces volt, és 105 °C-ig fűtötte fel a mintát. Volt olyan kísérlet sorozat, ahol a sok egymás utáni beállítás teszteléséhez ez a módszer lassú lett volna, így ott szárítószekrénybe (Vaciotem-T vákuum szárító szekrény) raktam a mintákat 105 °C-ra, 20 percig és analitikai mérleggel mért tömegveszteség alapján határoztam meg a nedvességtartalmukat.

4.3.2. Termékhőmérséklet mérés

A termék hőmérsékletének mérését in-line, a folyamatos szárító egyes zónáiban hőkamera segítségével valósítottam meg. Ennek céljából egy Testo 875 típusú kamerát használtam, és a gyártó honlapjáról letölthető programban értékeltem ki a képeket.

4.4. A granulátumok vizsgálata

4.4.1. Szemcseméret elemzés

A granulátumok szemcseméretét egy lézer diffrakciós készülékkel (Malvern Mastersizer 2000) vizsgáltam, 0,4 bar nyomás és 60 másodperces mérési idő alkalmazásával. A mérési program alapján a készülék a mérések előtt 45 másodpercen keresztül végezte a háttérfelvételt, majd a mintatartó 75%-os intenzitású vibrálása mellett a granulátumok bekerültek a mérési térbe és megkezdődött a szemcseméret eloszlás meghatározása. A szemcseméret jellemzésére

a d(10), d(50), d(90) értékeket használtam, melyek azt írják le, hogy az eloszlás 10/50/90%-a az adott szemcseméret átmérő alatt van.

4.4.2. Kifolyás vizsgálat

Az előállított granulátumokkal végeztem kifolyás vizsgálatokat is, mérve, hogy 50 g granulátum minta, mennyi idő alatt folyik ki egy 15 mm-es lyukátmérőjű ASTM szabvány (ASTM International - American Society for Testing and Materials) tölcserből. Az időeredményeket átlagoltam, majd kiszámoltam a kifolyási sebességet (g/s).

4.4.3. Tömörítés vizsgálat

A porfolyási tulajdonságok további vizsgálatára tömörítés vizsgálatokat is végeztem a granulátumokon egy ERWEKA SVM12 típusú tömörítés vizsgáló készülékkel. A méréshez mérőhengerbe bemértem 100 cm³ mintát, majd lemértem annak tömegét. Először 500 leütés után, majd további 750 leütés, összesen 1250 leütés után leolvastam a tömörített térfogatát. Ezek alapján kiszámoltam a tömörítetlen (ρ_b , bulk density) és a tömörített halmazsűrűséget (ρ_t , tapped density). Ezekből pedig a Hausner-arányt [37] és a Carr-indexet [38] határoztam meg. Az így kapott értékek alapján jól kategorizálhatók a porok és granulátumok porfolyási tulajdonságuk szerint (5. táblázat).

$$\text{Hausner} - \text{arány} = \frac{\rho_t}{\rho_b}$$

$$\text{Carr} - \text{index} = 100 * \frac{(\rho_t - \rho_b)}{\rho_t}$$

5. táblázat: Porfolyási tulajdonságok a Hausner-arány és Carr-index alapján

Folyási tulajdonság	Hausner-arány (Ph.Eur.)	Carr-index (Ph.Eur.)
Kiváló	1,00-1,11	1-10
Jó	1,12-1,18	11-15
Elég jó (spontán folyik)	1,19-1,25	16-20
Tűrhető (akadozva folyik)	1,26-1,34	21-25
Gyenge	1,35-1,45	26-31
Nagyon gyenge	1,46-1,59	32-37
Nagyon, nagyon gyenge	>1,60	>38

4.5. Baktérium tenyésztés

4.5.1. Táptalaj és tápoldat készítés

A *Lactobacillus acidophilus* tenyésztését a kifejezetten Lactobacillusokra szelektív MRS táptalajon és tápoldatban végeztem. Elkészítésük során a gyártó által megadott receptúrát követtem.

1 l agar elkészítéséhez feloldottam 63 g port ultratiszta desztillált vízben, majd hozzáadtam 10 ml MRS kiegészítőt (Tween80). Az elegyet állandó kevertetés mellett felforraltam. 1 l tápoldat elkészítéséhez 50 g port oldottam fel ultratiszta desztillált vízben, majd 10 ml MRS kiegészítőt (Tween80) adtam hozzá. Alaposan összekevertem az elegyet. Ezt követően sterilizáltam ezeket 121 °C-on 15 percig autoklávban.

Készítettem a táptalajokból ferde agarokat kémcsövekben, ezekhez a még meleg 9 ml agart tartalmazó kémcsöveket ferde felületre rakva szilárdítottam meg, majd felhasználásig hűtőben tároltam. Csináltam emellett Petri-csészékben lemezöntéses technikával is táptalajt, itt szintén a felmelegített folyékony agarból öntöttem a Petri-csészékbe 9 ml-t és körkörös mozdulatokkal egyenletesen eloszlattam a táptalajt. Ezt követően félig rárakva a Petri-csészék tetejét vártam, hogy megszilárduljanak a kiöntött agarok.

4.5.2. Liofilizált baktérium törzs reaktiválása

A Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti gyűjteményétől kapott baktérium törzset liofilezett állapotban vákuumzárásos dupla ampullában kaptam meg. A törzsek reaktiválását követően ferde agaros és tápoldatos tenyészetekből további átoltásokat végeztem.

4.5.3. Sejtbank készítés

Izolált *Lactobacillus acidophilus* törzset beoltottam 150 ml MRS tápoldatba, majd 48 órán keresztül 37 °C-os inkubátorba helyeztem. Ezt követően 20 steril kriocsőbe (CryoKING®, Biologix) pipettáztam 500-500 µl tenyésztett baktérium szuszpenziót, majd rámértem 500-500 µl glicerint. A kriocsöveket -80 °C hűtőbe raktam, és itt tároltam felhasználásig.

4.5.4. Baktérium tenyésztés a granuláláshoz

Az elkészített 2l sterilizált tápoldatot beoltottam egy sejtbankkal, majd 24 óra, 37 °C inkubálást követően kiszűrtem a baktériumokat. A szűrést egy 0,2 µm átmérőjű steril szűrőn végeztem steril fülkében vákuum szivattyú segítségével. Majd a szűrőről 100 ml steril PBS-oldattal viaszszuszpendáltam a baktériumokat. A tenyésztési idő meghatározásánál kutatócsoportunk korábbi eredményeit vettem figyelembe [32]. Így elkészült a granuláláshoz használni kívánt baktérium szuszpenzió.

4.5.5. Csíraszám meghatározás, lemezöntés

Az egyes mintákból mintát vettem egy kriocsőbe, lemértem a tömegét, majd 1 ml-re egészítettem ki PBS-oldattal. Ezután elkészítettem a hígítási sort, először az 1 ml mintát 9 ml steril PBS-oldatot tartalmazó kémcsőbe raktam, majd vortex keverővel homogenizáltam, ez lett a 10^{-1} hígítása a mintának. Ebből 1 ml-t kivettem és egy újabb 9 ml PBS-oldatot tartalmazó kémcsőbe raktam, majd homogenizáltam, így kapva a 10^{-2} hígítást. További hígításokhoz, mindig 1-1 ml pipettáztam át 9 ml PBS-oldatba, így kapva a 10^{-3} , 10^{-4} hígításokat és így tovább. Az adott hígításból, amit vizsgálni szerettem volna 1 ml-t pipettáztam egy steril Petri-csészébe, majd 9 ml 40-50 °C-os folyékony agart öntöttem rá (lemezöntéses technika, angolul pour plate method) és körkörös mozdulatokkal egyenletesen eloszlattam a táptalajt a Petri-csésze alján. Megszilárdulásuk után, a mintákra történő páralecsapódás elkerülése végett, fejjel lefelé egy fém tartóba helyeztem a Petri-csészéket, és inkubátorba raktam azokat 37 °C-ra 2-3 napig. Csíraszámot határoztam meg a placebo kakaógranulátumokból, a placebo kiindulási kakaó homogenizátumból, a *Lactobacillus acidophilus* is tartalmazó granulátumokból, illetve a baktériumos szuszpenzióból, ami az előbbi minták granuláló folyadék volt. A telepszámot kézzel számoltam meg egy nagyító segítségével, majd tömegre normalizálva adtam meg a CFU értékeket.

4.5.6. Optikai denzitás mérés

Az optikai denzitás (OD) vizsgálat alkalmas kis mennyiségű anyag gyors, egyszerű, rutinszerű mérésére. A vizsgálni kívánt mintákból és a referencia oldatból 200 µl-t pipettáztam egy 96-lyukú lemezre, majd behelyeztem a készülékbe, ami lemérte négy különböző hullámhosszon az oldatok abszorbanciáját. Az abszorbancia értékekben bekövetkező változások alapján vizsgálni tudtam, hogy történt-e sejtszaporodás, annak függvényében, hogy nőtt-e az OD érték a referenciához képest. Amennyiben mindent rendben találtam következhetett a szűrési lépés.

5. Eredmények és értékelésük

5.1. A kiindulási porkeverék és granulálásának vizsgálata

Mielőtt a *Lactobacillus acidophilus* baktériumot a kakaó készítménybe integráltam volna, placebo granulálási kísérleteket végeztem, hogy megtaláljam az optimális beállításokat, paramétereket a kakaópor folyamatos üzemű nedves granulálásához. Kakaópor referenciának a Nesquik kakaóport választottam, ennek a receptjét vettem alapul az összetétel meghatározásakor. A Nesquiket Magyarországon a szerencsi üzemben gyártják Vibra fluidágyas granulálással, ami egy forró vízgőzt alkalmazó eljárás, ami a probiotikum gyártással inkompatibilis. Első célom volt az általam előkészített kakaópor homogenizátum folyamatos üzemű gyártástechnológiájának megvalósítása nedves granulálási technológiával. A későbbiekben a probiotikus készítmény előállításához a mikroorganizmust a granulálófolyadékba szuszpendálva terveztem a kakaópor előhomogenizátumhoz adagolni.

A kiindulási porkeverék tulajdonságait megvizsgálva látható, hogy porfolyási tulajdonságai meglehetősen rosszak a forgalomban lévő Nesquik kakaóporhoz képest (6. táblázat). Így egy praktikus készítmény formulálásához mindenképp javítani kell a gördülékenységen a keveréknek, elősegítve az adagolást, továbbá elkerülve a komponensek fajtázódását.

6. táblázat: A Nesquik referencia és a kiindulási kakaópor keverék tulajdonságainak összehasonlítása

Mért tulajdonság → Minta azonosító ↓	Nedvességtartalom (20 perc 105°C-on)	Halmazsűrűség			Kifolyási sebesség
		Hausner- arány	Carr- index	Folyási tulajdonság	
	%	-	-		g/s
Nesquik referencia	3,69	1,14	12	jó	13,74
Kiindulási homogenizátum	1,56	1,32	24	tűrhető	nem folyt ki

Kiindulási kakaópor keverék Nesquik referencia Saját probiotikus kakaó granulátum

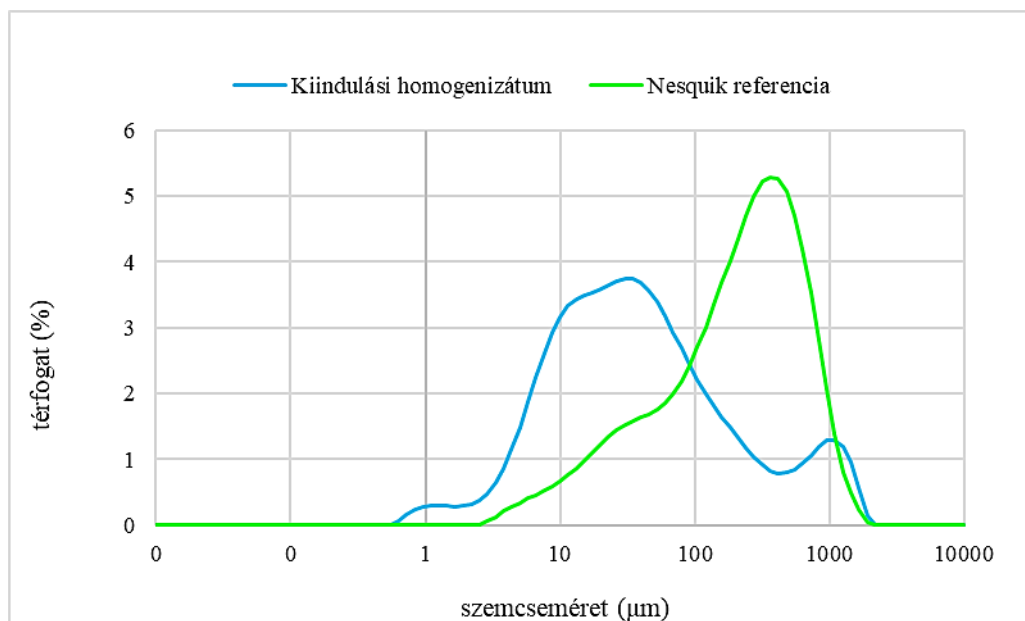


8. ábra: Kiindulási kakaópor, referencia kakaópor és az álltam gyártott kakapor

Továbbá vizuális vizsgálat alapján is megállapítható volt, hogy a kiindulási porkeverék szemcsemérete nagyon kicsi, porfolyási tulajdonsága pedig rossz (8. ábra), ezért agglomerátumképzéssel érdemes javítani a porreológiai tulajdonságain. A Nesquik esetében egy vízgőzös agglomerátum képzéssel teszik ezt, és látható, hogy a szemcsemérete jóval nagyobb (7. táblázat). A szemcseméret eloszlását a referencia és a kiindulási porkeveréknek egy diagramon is ábrázoltam (9. ábra), melyen jól látszik, hogy a kiindulási homogenizátum esetében multimodális szemcseméret eloszlás, míg a Nesquiknél sokkal szűkebb, unimodális szemcseméret eloszlás figyelhető meg.

7. táblázat: A Nesquik referencia és a kiindulási porkeverék szemcseméret elemzésének eredménye

Mért tulajdonság → Minta azonosító ↓	Szemcseméret		
	d (10) μm	d (50) μm	d (90) μm
Nesquik referencia	26,43	246,51	768,58
Kiindulási homogenizátum	6,88	36,27	533,47



9. ábra: A Nesquik referencia és a kiindulási porkeverék szemcseméret eloszlása

A folyamatos gyártás előtt végeztem egy előkísérletet is, amely során különböző L/S arányokat teszteltem szakaszos granulálás esetén, kézi üzemmódban, dörzsmozsárban modellezve a nedves granulálást. Bemértem 1 g szilárd kiindulási porkeveréket, majd a különböző tesztelni kívánt L/S arányoknak megfelelő desztillált vizet mértem hozzá. Ennek eredményét a 8. táblázat tartalmazza. A képeken jól látható, hogy nagyobb L/S arányoknál a

kakaó feloldódott a vízben, folyékony massa keletkezett, míg túl kicsi L/S aránynál nem valósult meg az agglomerátum képzés, száraz por állagú maradt a kakaó. A 0,2 L/S aránynál értem el megfelelő állagot, így a későbbiekben ezzel a beállítással terveztem folyamatos üzemben is elvégezni a nedves granulálást.

8. táblázat: Folyadék/szilárd (L/S) anyag arány tesztelése szakaszos eljárás során

L/S arány	0,5	0,4	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1
bemért szilárd porkeverék (g)	1	1	1	1	1	1	1
bemért deszt. víz (ml)	0,5	0,4	0,3	0,25	0,2	0,15	0,1
fotók							

5.2. Folyamatos granulálás lehetőségének vizsgálata

A folyamatos üzemű ikercsigás granuláló - horizontális fluidágyas szárító - oszcillációs őrlő gyártáson különböző beállításokat teszteltem az optimális paraméterek megtalálása céljából. Először a megfelelő L/S arány megtalálásával foglalkoztam, így minden más beállítást fixáltam. A szilárd porkeverék adagolási sebességét (4.2.1.), a granuláló hőmérsékletét (4.2.2.), a csigák fordulatszámát, a szárító vibrációját (4.2.3.) és a regenerálás paramétereit (4.2.4.) a módszerek részénél ismertetett értékekre állítottam. A szárítási hőmérsékletet és a szárító levegő térfogatáramát kutatócsoportunk korábbi munkáját alapul véve állítottam be 100°C-ra, valamint 120 l/min-re minden zónában [32].

A kakaópor előhomogenizátum folyamatos üzemű granulálásához az előkísérlet során meghatározott 0,2 L/S arányt választottam. Mivel a későbbiekben a granuláló folyadékba szuszpendálva terveztem a baktériumok integrálását, így a célom az volt, hogy minél nagyobb L/S aránnyal tudjam végezni a granulálást, ezzel a továbbiakban a lehető legtöbb baktériumot juttathassam a kakaómátrixba. Azonban ez a folyadék adagolás folyamatos üzemben nagyon soknak bizonyult és az ikercsigás granulálóból kakaómassza kezdett el kifolyni a granulátum szemcsék helyett. Így az L/S arányt több mint felére kellett csökkentenem, mire megfelelő granulátumok képződését tapasztaltam, ami feltehetőleg az ikercsigák hatékonyabb gyúrájának köszönhető. A 0,08-0,09 közötti L/S arány bizonyult megfelelőnek a későbbiekben (10. ábra).



10. ábra: A fluidágyas szárítóba bekerülő nedves granulátum

A 9. táblázat tartalmazza a folyamatos üzemben gyártott granulátumok tulajdonságait, ahol a mintaazonosítók az alkalmazott L/S arányt jelölik. Megállapítható, hogy mind a 0,08-as, mind a 0,09-es L/S aránynál szép granulátumok képződtek, továbbá sikerült a Nesquik referenciánál is jobb kifolyási sebességet is (ref.: 13,74 g/s) elérni. Emellett a szárítás (100 °C, 120 l/min) is hatékonynak bizonyult, bőven a Nesquik nedvességtartalma alatt volt a granulátumok nedvességtartalom értéke.

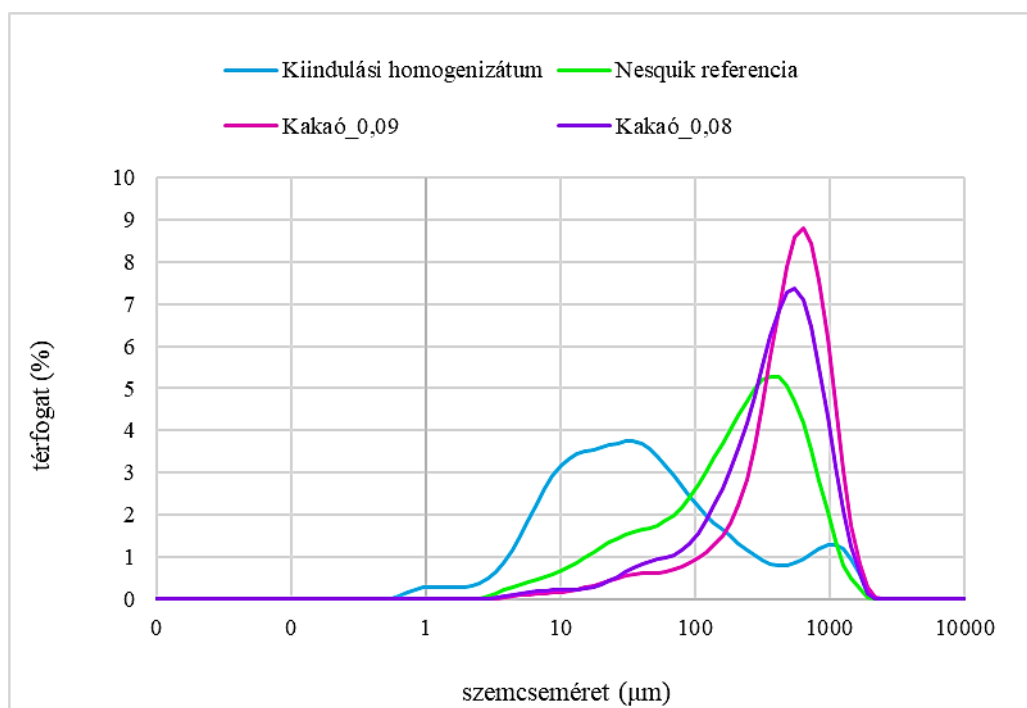
9. táblázat: A folyamatos granulálás lehetőségének vizsgálata során előállított granulátumok porfolyási tulajdonságainak összefoglalása (a mintaazonosítókban jelzett számértékek az alkalmazott L/S arányt jelölik)

Mért tulajdonság → Minta azonosító ↓	Nedvességtartalom	Halmazsűrűség			Kifolyási sebesség g/s
	(20 perc 105°C-on)	Hausner- arány	Carr- index	Folyási tulajdonság	
	%	-	-		
Kiindulási homogenizátum	1,56	1,32	24	tűrhető	nem folyt ki
Nesquik referencia	3,69	1,14	12	jó	13,74
Kakaó 0,09	2,49	1,176	15	jó	21,87
Kakaó 0,08	1,75	1,160	14	jó	21,59

Látszik, hogy a granulálással szépen sikerült növelni a szemcseméretet a kiindulási porkeverékhez képest (10. táblázat), tehát az agglomerátumképzés sikeres volt az adott körülmények között. Sőt az általam előállított termék eloszlása szűkebb volt, mint a Nesquik referencia esetében, ami jelezte, hogy sikerült a piacon lévő terméknel is egyenletesebb méretű granulátumokat előállítani (11. ábra).

10. táblázat: A granulátumok szemcseméret vizsgálatának eredményei

Mért tulajdonság → Minta azonosító ↓	Szemcseméret		
	d (10) μm	d (50) μm	d (90) μm
Kiindulási homogenizátum	6,88	36,27	533,47
Nesquik referencia	26,43	246,51	768,58
Kakaó_0,09	101,31	513,32	969,86
Kakaó_0,08	83,85	436,39	998,04



11. ábra: A szemcseméret eloszlás ábrázolása

5.3. Folyamatos granulálás paramétereinek optimalizálása

5.3.1. Szárítási térfogatáram hatásának vizsgálata különböző L/S arányoknál

A következő kísérlet sorozatban különböző L/S arányokat teszteltem más-más szárítólevegő térfogatáramok mellett. Céлом volt a lehető legnagyobb L/S arány megtalálása, ahol még szép granulátumok képződnek, majd a fluidágyas szárítóban meg is száradnak. Így végeztem kísérletet 0,08 kg/h folyadékadagolás mellett, azaz 0,08 L/S arány mellett, 0,09 L/S és 0,10 L/S aránynál is. Mindegyik esetben 3-3 értéken vizsgáltam a szárító levegő térfogatáramának hatását, ezek a 120 l/min, 150 l/min, 180 l/min térfogatáramok voltak. A többi paraméteren nem változtattam, a szárító levegő hőmérsékletét 100 °C-ra fixáltam. A nem fixált gyártási paramétereket az 11. táblázat tartalmazza.

11. táblázat: A változtatott gyártási paraméterek összefoglalása (a mintaazonosítók az alkalmazott L/S arányt és a szárítási térfogatáramot kódolják)

Minta azonosító	Gyártási paraméterek				
	Folyadék adagolás	Folyadék adagolás	Granuláló folyadék tartalom	Folyadék-szilárd arány (L/S)	Szárító levegő térfogatárama
	rpm	kg/h	%	-	l/min
Kakaó 0,08 120	3,0	0,08	8	0,08	120
Kakaó 0,08 150	3,0	0,08	8	0,08	150
Kakaó 0,08 180	3,0	0,08	8	0,08	180
Kakaó 0,09 120	3,4	0,09	9	0,09	120
Kakaó 0,09 150	3,4	0,09	9	0,09	150
Kakaó 0,09 180	3,4	0,09	9	0,09	180
Kakaó 0,1 120	3,8	0,10	10	0,1	120
Kakaó 0,1 150	3,8	0,10	10	0,1	150
Kakaó 0,1 180	3,8	0,10	10	0,1	180

A kísérletek értékelését a kész granulátumok vizsgálatával jellemeztem (12. táblázat). A nedvesség tartalmat ennél a kísérlet sorozatnál szárítószekrényben végeztem. A mért kisebb értékek a nedvességtartalom mérővel mértékhez képest azzal magyarázhatók, hogy a szárítószekrényből ki-be pakolásnál is száradhatott a minta. Azonban az a tendencia jó látszik, minél nagyobb volt az L/S arány, annál nagyobb volt a nedvesség tartalma a granulátumoknak, illetve megfigyelhető, hogy a szárító levegő térfogatáramának nem volt döntő jelentősége a nedvességtartalomra. Mindegyik beállításkor tapasztalható volt, hogy a kifolyási sebessége a granulátumoknak lényegesen jobb lett, mint a kiindulási, sőt mint a referencia Nesquik kakaónak. Továbbá a porok tulajdonságát számszerűen jellemző Hausner-arány és Carr-index is javult, jó, egyes esetekben kiváló folyási tartományba estek a granulátumok.

12. táblázat: Az L/S arány és a szárítólevegő térfogatáramának változtatásával kapott placebo granulátumok vizsgálati eredményei (A minta azonosítók az alkalmazott L/S arányt és a szárítási térfogatáramot kódolják.)

Mért tulajdonság → Minta azonosító ↓	Nedvességtartalom	Halmazsűrűség			Kifolyási sebesség	Szemcse- méret
	(szárítószekrényben)	Hausner- arány	Carr- index	Folyási tulajdonság		d(50)
	%	-	-	-		μm
Kakaó_0,08_120	0,43	1,11	10,0	kiváló	21,87	399,02
Kakaó_0,08_150	0,39	1,15	13,0	jó	21,8	550,52
Kakaó_0,08_180	0,41	1,12	11,0	jó	21,3	356,48
Kakaó_0,09_120	0,77	1,14	12,0	jó	21,3	555,16
Kakaó_0,09_150	0,95	1,12	11,0	jó	23,0	529,62
Kakaó_0,09_180	1,54	1,11	10,0	kiváló	21,8	494,94
Kakaó_0,1_120	2,2	1,13	11,5	jó	21,6	622,88
Kakaó_0,1_150	2,26	1,08	7,0	kiváló	25,1	665,56
Kakaó_0,1_180	2,24	1,08	7,0	kiváló	25,2	635,38

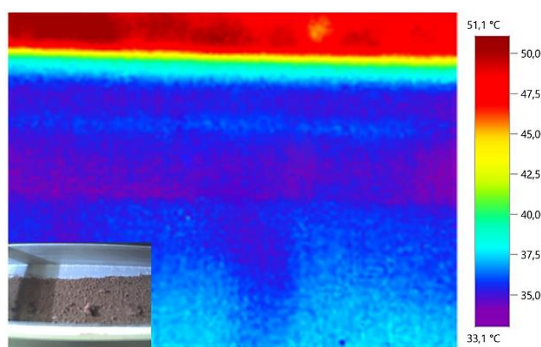
A szemcseméret eloszlását is megvizsgáltam a mintáknak, nagyobb változást nem tapasztaltam az előző placebo granulátumokhoz képest, ugyanúgy szűk eloszlást mutattak, a $d(50)=500\mu\text{m}$ körül mozgott.

A további kísérletekhez a 0,09 L/S arányt és a 120 l/min térfogatáramú szárítási paramétert választottam, mivel a 0,1 L/S aránynál már nem olyan ütemben történt a granulátumképzés, adott idő alatt kevesebb késztermék keletkezett a gyártósor végén. Mivel a porreológiai tulajdonságai a 0,09 L/S aránynál gyártott granulátumnak is megfelelőek voltak, illetve, már 120 l/min térfogatáramnál is megszáradtak a granulátumok, így az energiahatékonyság szempontokat is figyelembe véve a továbbiakban ezekkel a paraméterrel végeztem a granulálást.

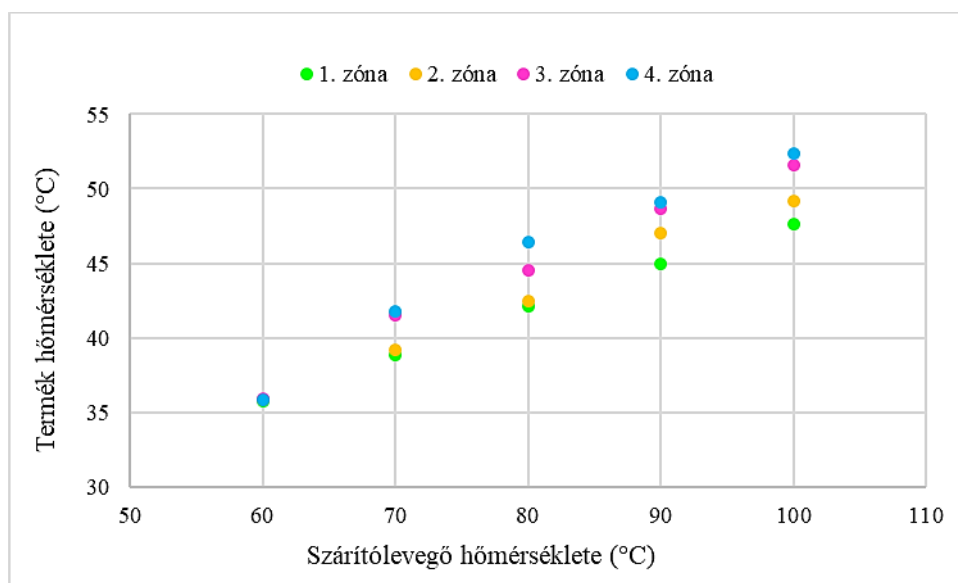
5.3.2. Termékhőmérséklet vizsgálata

A következő kísérlet sorozatban a termék hőmérsékletet vizsgáltam a placebo granulálás során, hiszen a későbbiekben a baktérium túlélése szempontjából a hőmérsékleti stressz faktor jelentős mértékű lehet. Emiatt azt vizsgáltam, hogy mi az a legkisebb szárítási hőmérséklet, ahol még a nedves granulátumok megszáradnak. Az előbbieken meghatározott 0,09 L/S aránnyal és 120 l/min szárító levegő térfogatárammal végeztem a kísérleteket. Vizsgáltam 5 különböző szárítási hőmérsékletet, ezek 60, 70, 80, 90 és 100 °C voltak. A szárító mind a négy zónájában azonos beállítást használtam.

A termék hőmérséklet nyomon követésére hőkamerát használtam (12. ábra), és a szárító mind a négy zónájában mértem a termék hőmérsékletét. Jól látható, hogy a szárítási hőmérséklet növelésével nőtt a termék hőmérséklete is. Magasabb szárítóhőmérsékletek alkalmazásakor továbbá az is megállapítható, hogy magasabb hőmérsékletek alkalmazása esetén a szárító egymást követő zónáiban is emelkedik a termék hőmérséklete, a 4. zónában mértem a legmagasabbat (13. ábra).



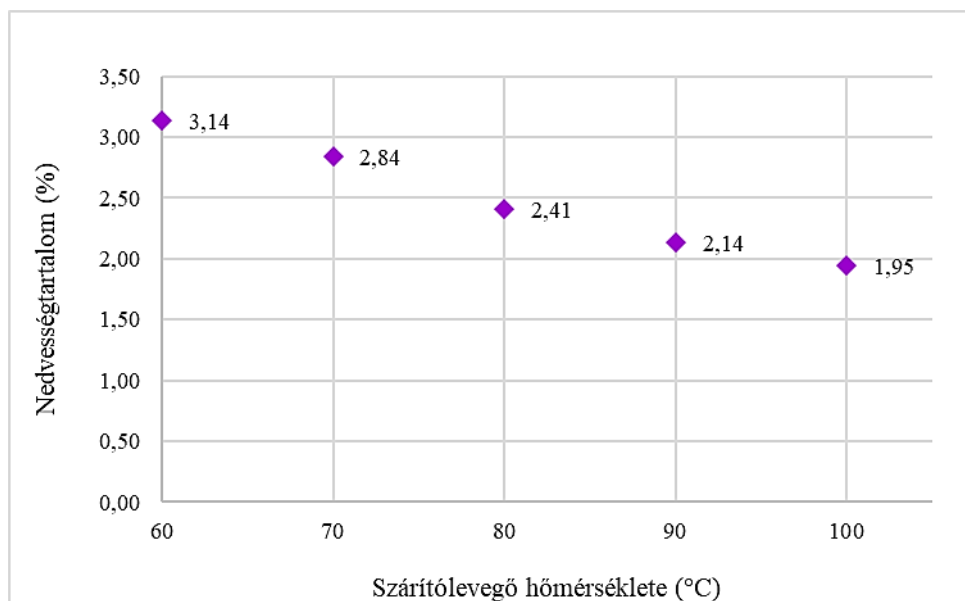
12. ábra: A szárítóban lévő granulátumokról készült valós fotó (ábra bal alsó sarka), valamint a hőkamera kép a 60°C, 120 l/min beállításról a szárító első zónájában



13. ábra: A granulátumok hőmérsékletének vizsgálata a folyamatos szárítóberendezés zónáiban különböző szárítólevegő hőmérsékletek alkalmazása mellett

Észrevehető továbbá az a tendencia is, miszerint ahogy növeltem a szárítás hőmérsékletét, úgy csökkent a nedvességtartalma is a granulátumoknak (14. ábra). A mérések azt igazolták azonban, hogy már a 60 °C-os szárítási hőmérsékletnél is megfelelő nedvességtartalmat mértem, a referencia mintához hasonló. Megállapítható tehát, hogy elegendő a 60 °C-os szárítási hőmérséklet a granulátumok szárítására 120 l/min levegőárammal, hiszen a

granulátumok nedvességtartalma a referencia érték alatt maradt így is. Továbbá energiahatékonyság szempontjából is a 60 °C és a 120 l/min a legjobb beállítás. Így a *Lactobacillus acidophilus* integrálásakor ezt a szárítási beállítást terveztem használni.



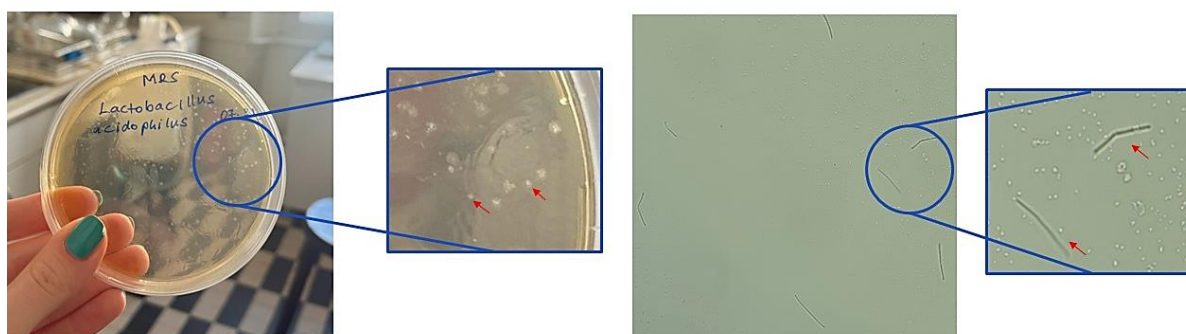
14. ábra: Nedvességtartalom értékek a szárító levegő hőmérsékletének függvényében

Összegezve a placebo granulálási kísérletek eredményeit elmondható, hogy az optimális gyártási paraméterek a probiotikus kakaópor gyártásához a következők lehetnek: 0,09 L/S arány és 60 °C-os szárítólevegő hőmérséklet 120 l/min-es térfogatárammal.

5.4. *Lactobacillus acidophilus* tartalmazó kakaópor granulálása

5.4.1. A baktériumtörzs és a kakaópor komponenseinek vizsgálata

A granulálás megkezdése előtt megvizsgáltam a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményétől kapott, reaktivált, átoltott, általam MRS tápoldatban kitenyésztett baktériumtörzset mikroszkóp alatt. Megállapítottam, hogy a szakirodalomban leírt forma jellemzi őket, bot alakú sejteket láttam. Illetve a táptalajon is a *Lactobacillus acidophilus*ra jellemző fehér, kis telepek nőttek. Így tehát valóban a *Lactobacillus acidophilus* szaporodott el a tápoldatban és a táptalajon is, nem történt befertőződés (15. ábra).



15. ábra: *Lactobacillus acidophilus* telepek MRS táptalajon (bal) és *Lactobacillus acidophilus* sejtek az MRS tápoldatból mikroszkóp alatt (jobb)

Annak érdekében, hogy a további kísérletekben egyértelműen beazonosítható legyen a baktérium növekedése az MRS táptalajon, előkísérletet végeztem. Megvizsgáltam a kiindulási kakaópor előhomogenizátumot és a placebo granulátumokat is. Egy mikrokanálnyi mintát feloldottam 1 ml desztillált vízben, és ebből 100 µl-t Petri-csészébe raktam és MRS táptalajból kiöntöttem. Azt tapasztaltam, hogy a kakaóporból és a placebo granulátumokból nem nőtt ki semmi MRS táptalajon, így feltehetően a baktériumot tartalmazó kakaókból is egyértelműen lehet majd a telepeket számolni, CFU-t meghatározni.

5.4.2. *Lactobacillus acidophilus* tenyésztése a sejtbankból

Az így már bizonyítottan *Lactobacillus acidophilus* tartalmazó MRS tápoldatból [sejtbankot készítettem](#) a módszerek részénél leírtak szerint, ezeket használtam fel a továbbiakban egy-egy tenyésztéshez. Azonban az első granulálás előtt teszteltem kisebb méretben, hogy a sejtbankból valóban elszaporodnak-e a baktériumok, így 200 ml MRS tápoldatot beoltottam egy sejtbankkal, majd 24 óráig inkubátorba raktam. A 16. ábrán látható, hogy a beoltott tápoldat opálos lett, így a sejtbankból fel tudtak szaporodni a sejtek, így a granuláláshoz nagyobb méretben is elvégeztem a tenyésztést.



16. ábra: MRS tápoldatban elszaporodott *Lactobacillus acidophilus* (bal), referencia MRS tápoldat (jobb)

A granulálás nagy anyagigényű, így 2 l MRS tápoldatot oltottam be sejtbankkal. A tápoldatot 24 órára 37 °C-os inkubátorba tettem. Másnap optikai denzitás méréssel igazoltam, hogy történt szaporodás a tápoldatban ($OD_{\text{üres tápoldat}}=0,163$, $OD_{\text{LBA}}=0,253$), illetve szabad szemmel is láthatóan opálos volt. A steril szűrést követően a PBS-ben történő felvétel után is láthatóan opálos szuszpenziót kaptam (17. ábra), így ezek arra engedtek következtetni, hogy volt szaporodás, így megkezdtem a granulálási folyamatot.



17. ábra: A tiszta PBS-oldat (bal) és a *Lactobacillus acidophilus*-t tartalmazó PBS-szuszenzió (jobb)

5.4.3. Probiotikus kakaó granulálása

A placebo kísérletek során megállapított optimális granulálási paraméterekkel végeztem el a granulálást: szilárd porkeverék anyagárama 1 kg/h, csigafordulatszama 200 rpm, az alkalmazott 0,09 L/S arányhoz szükséges granuláló folyadék tömegáram kalibrációval meghatározva, az ikercsigás granuláló csigakonfigurációja azonos volt a placebo kísérletek során használttal, mind a négy zónájának a hőmérséklete 25 °C, a fluidágyas szárító vibrációjának intenzitása 40 Hz, szárítási hőmérséklete 60 °C és a szárító levegő térfogatárama 120 l/min, oszcillációs őrlő szitabetétjének az átmérője 0,8 mm, az őrlő sebessége 200 oszcilláció/min.

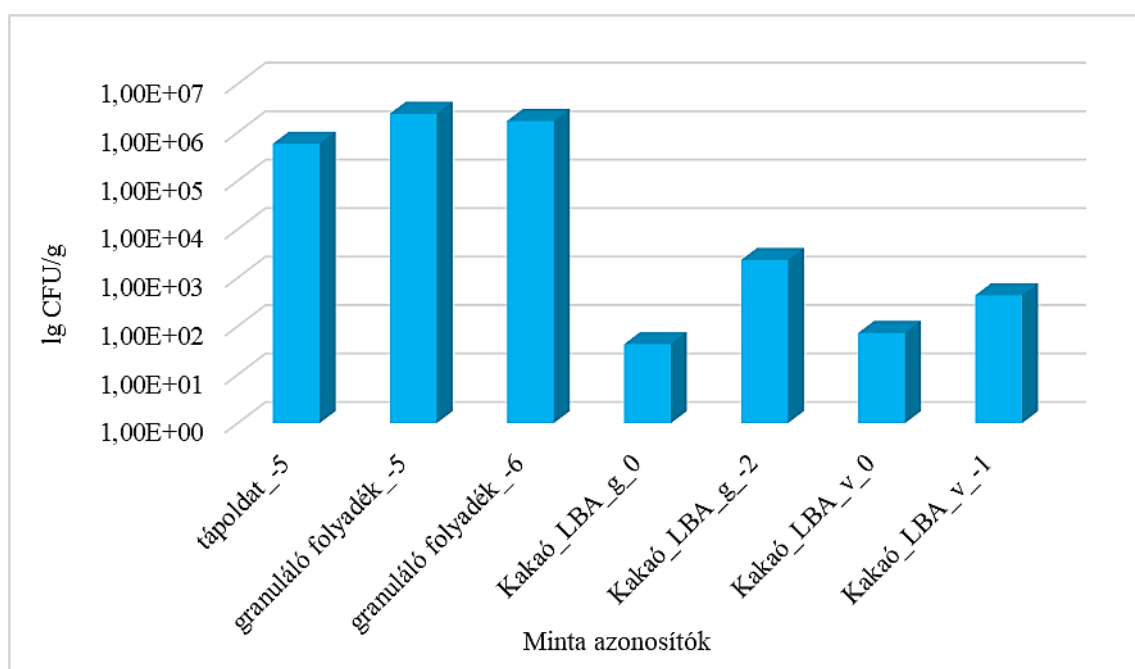
Az első kísérlet során 2 l MRS tápoldatban tenyésztettem a *Lactobacillus acidophilus*-t, majd ebből 100 ml PBS-szuszenziót készítettem a granuláláshoz. A granuláló folyadékból és a baktériumos formulációt követően a granulátumokból is elvégeztem a [sejtszám meghatározást](#) a módszerek résznél leírtak szerint. Azt vizsgáltam, hogy túléltek-e a baktériumok a gyártási eljárást. A CFU értékeket szárazanyagtartalomra adtam meg mindegyik esetben. Jól ki tudtam mutatni, hogy a granuláló folyadékban voltak baktériumok, 10^7 -enes nagyságrendben (13. táblázat), azonban a granulátum mintáknál a vizsgált hígításoknál (10^{-4} , 10^{-5}) nem nőtt ki semmi a táptalajon, így feltehetőleg ennél kevesebb baktériumot sikerült a kakaóba integrálni.

13. táblázat: CFU/g értékek a granuláló folyadéokban

Minta azonosító	Hígítás	CFU/g
granuláló folyadék	1,00E+04	1,30E+07
	1,00E+05	1,87E+07

Az ismételt granulálási kísérlet során kisebb mennyiségű, 200 ml MRS tápoldatot oltottam be, gyorsabb szaporodást várva, ugyanakkor rövidebb granulálási kísérletet. A *Lactobacillus acidophilus* tápoldat tenyészetből készítettem 20 ml PBS-szuszpenziót a granuláláshoz. A granulálás során vettem mintát a granuláló után, tehát mielőtt a granulátumok a szárítóba érkeztek volna, illetve a gyártósor végéről is, a szárítást és regranulálást követően.

A granuláló folyadékból ismét sikerült kimutatni a *Lactobacillus acidophilus*-t, tehát a szűrést gond nélkül túléltek, és most a kisebb hígításoknál (10^0 , 10^{-1} , 10^{-2}) kimutathatóvá vált a granulátumokban is a baktérium, mind a szárítás előtt és után. A probiotikus minták kódolása tartalmazza a *Lactobacillus acidophilus* rövidítését (LBA) és azt, hogy honnan vettem a mintát, a granuláló után (g) vagy a gyártósor végén (v), illetve, hogy melyik hígításból származik az érték (18. ábra).



18. ábra: Minták CFU/g értékei az egyes hígításoknál (LBA jelölés utal arra, hogy a granulátumok tartalmaztak *Lactobacillus acidophilus* baktériumot, a „g” arra, hogy a granuláló végéről lett gyűjtve a minta, míg a „v” jelzi, hogy a gyártósor végéről, a számok pedig, hogy melyik hígításból származik az eredmény)

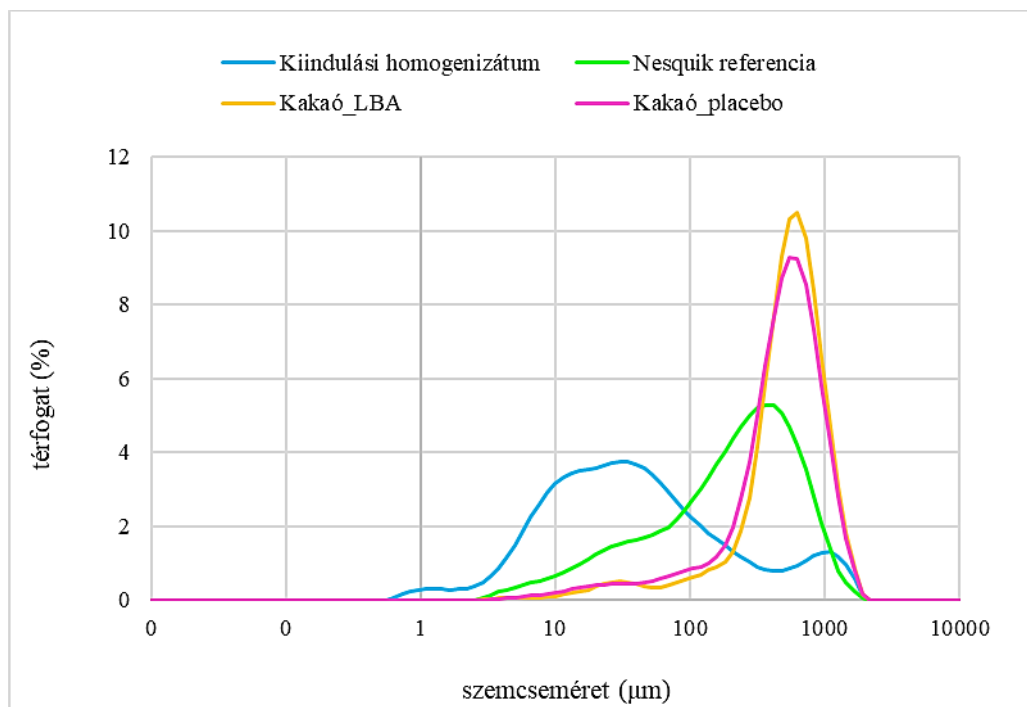
Továbbá vizsgáltam a *Lactobacillus acidophilus* tartalmazó kakaógranulátumok porreológiai tulajdonságait is, megnézve, hogy történt-e változás a placebo granulátumokhoz

képest a baktériumok integrálása miatt. A 14. táblázatban feltüntettem a kiindulási kakaópor, a Nesquik referencia és a Kakaó_placeboval kódolt, 0,09 L/S aránnyal gyártott, 60°C, 120 l/min paraméterekkel szárított placebo granulátum minta reológiai tulajdonságait. Megállapítható, hogy a baktériumok integrálása nem befolyásolta ezeket a tulajdonságokat, ugyanúgy sikerült egy kiváló folyási tulajdonságú granulátumot előállítani, és a referencia nedvességtartalom alatt maradni a Kakaó_LBA_v-vel kódolt mintánál.

14. táblázat: *Lactobacillus acidophilus* tartalmazó granulátum összehasonlítása a placebo, a referencia és a kiindulási kakaópor reológiai tulajdonságaival

Mért tulajdonság → Minta azonosító ↓	Nedvességtartalom	Halmazsűrűség			Kifolyási sebesség g/s
	(szárítószekrényben)	Hausner- arány	Carr- index	Folyási tulajdonság	
	%	-	-		
Kiindulási homogenizátum	1,56	1,32	24	tűrhető	nem folyt ki
Nesquik referencia	3,69	1,14	12	jó	13,74
Kakaó_placebo	3,14	1,06	6,0	kiváló	23,02
Kakaó_LBA_v	3,52	1,08	7,0	kiváló	23,30

A szemcseméret eloszlást is megvizsgáltam, és összehasonlítottam a kiindulási kakaópor, a Nesquik referencia és a placebo granulátumhoz képest (19. ábra). Látható, hogy ebben a tulajdonságban sem történt jelentős változás a probiotikus granulátum mintában.



19. ábra: Kakaó_LBA szemcseméret eloszlásának vizsgálata

Így tehát sikerült megvalósítanom a kutatómunkám fő célját, a *Lactobacillus acidophilus* kakaóba történő integrálását. Azonban a terveim között van a CFU érték növelése, mind a kiindulási tápoldatban, mind pedig a gyártási folyamat végén a granulátumokban.

6. Összefoglalás

Kutatómunkám során sikerült megvalósítanom a fő célkitűzésem, előállítottam probiotikus baktériumot tartalmazó kakaó alapú granulátumokat folyamatos üzemű granuláló gyártósoron.

Sikerült megvalósítanom egy kakaópor alapú készítmény hatékony, nagyüzemben is megvalósítható gyártását folyamatos technológiával. Megtaláltam az optimális paramétereket az integrált, ikercsigás granuláló - fluidágyas szárító - oszcillációs őrlő gyártósoron egy hőérzékeny baktériumot tartalmazó élelmiszermátrix nedves granulálásához. A módszer további előnye, hogy a berendezés helyigénye lényegesen kisebb, mint a jelenleg Nesquik kakaó gyártására alkalmazott készüléké. Kutatómunkámmal egy hatékony, robosztus technológiát fejlesztettem ki gyermekek számára alkalmazható kakaópor alapú készítmény gyártásához, ezzel lehetőséget adva, hogy bővüljön a kifejezetten nekik szánt probiotikus termékek palettája. Továbbá egy bizonyítottan probiotikus baktériumot, a *Lactobacillus acidophilus*t sikeresen integráltam a kakaópor előhomogenizátum nedves granulálási technológiájába, a granuláló folyadékon keresztül. Sikerült életképes baktériumokat kimutatnom a kész granulátumokban is, melyek megfelelő közegben (tej) szaporodni képesek.

Jövőbeli céljaim közé tartozik a granulátum CFU/g értékének növelése, egy piacképesebb termék létrehozásához. Ezt magasabb sejtszámot tartalmazó kiindulási tápoldattal szeretném első körben véghezvinni, amihez a baktérium tenyésztését kell optimalizálnom, esetleg több kisebb térfogatú párhuzamos tenyésztéssel. Távolabbi célom több baktérium törzs egyidejű bejuttatása a készítménybe, melynek megvalósításával multikomponensű termékek előállítása is lehetővé válna. Mindezek mellett pedig a jövőben szeretnék a folyamatos granulálás mellé in-line alkalmazható analitikai módszereket fejleszteni, melyekkel a folyamat közben is igazolhatóvá válna az állandó termékminőség.

7. Köszönetnyilvánítás

Elsősorban szeretném kifejezni végtelen hálámat és köszönetemet *Dr. Szabó Edinának* a rengeteg szakmai segítségért, amit kutatómunkám és a TDK dolgozat írása közben nyújtott számomra. Sokat fejlődtem mellette szakmailag. Köszönöm a végtelen türelmét és elkötelezettségét, amivel felém és kérdéseim felé fordult.

Továbbá köszönettel tartozom a Firepharma csoport vezetőjének, *Dr. Nagy Zsombornak* a lehetőségért, hogy kutatócsoportjában dolgozhattam, illetve a szakami segítségért. Kivételes lehetőségekkel és értékes tapasztalatokkal gazdagodtam.

Köszönöm továbbá *Dr. Hirsch Editnek, Dr. Feigl Viktóriának, Dr. Molnár Mónikának és Janek Zsuzsannának* a sok segítséget, és tapasztalatot.

Végezetül pedig hálás vagyok a csoport *minden tagjának*. Illetve szeretném megköszönni *család tagjaimnak és barátaimnak* a kimeríthetetlen támogatásukat.

A munka az Innovációs és Technológiai Minisztérium által a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott PD142301 projekt, valamint a támogatásával valósult meg.

A TKP-9-8/PALY-2021 számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium támogatásával valósult meg a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból, a TKP2021-EGA támogatási konstrukció keretében.

8. Irodalomjegyzék

- (1) Hirsch, E.; Pantea, E.; Vass, P.; Domján, J.; Molnár, M.; Suhajda, Á.; Andersen, S. K.; Vigh, T.; Verreck, G.; Marosi, G. J.; Nagy, Z. K. *Food and Bioproducts Processing* **2021**, *128*, 84–94.
- (2) Mimee, M.; Citorik, R. J.; Lu, T. K. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **2016**, *105*, 44–54.
- (3) Barišić, V.; Icyer, N. C.; Akyil, S.; Toker, O. S.; Flanjak, I.; Ačkar, Đ. *Trends in Food Science and Technology*, **2023**, *132*, 65–75.
- (4) Maftai, N. M.; Raileanu, C. R.; Balta, A. A.; Ambrose, L.; Boev, M.; Marin, D. B.; Lisa, E. L. *Microorganisms*, **2024**, *12*, 234.
- (5) Hossain, M. N.; Ranadheera, C. S.; Fang, Z.; Ajlouni, S. *J Food Sci* **2021**, *86*, 1629–1641.
- (6) <https://www.webbeteg.hu/cikkek/egeszseges/10723/probiotikumok-es-az-antibiotikumok>
- (7) Possemiers, S.; Marzorati, M.; Verstraete, W.; Van de Wiele, T. *Int J Food Microbiol* **2010**, *141*, 97–103.
- (8) Joint FAO/WHO Working Group, **2002**, Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food
- (9) <https://www.omni-biotic.com/hu-hu/a-belrendszer-egeszsege/a-bel-az-egeszseg-kozpontja/prebiotikum/>
- (10) Lou, X.; Xue, J.; Shao, R.; Mo, C.; Wang, F.; Chen, G. *Burns and Trauma*, **2023**, *11*, tkad022
- (11) Lalicic-Petronijevic, J.; Popov-Raljić, J.; Obradović, D.; Radulović, Z.; Paunović, D.; Petrušić, M.; Pezo, L. *J Funct Foods* **2015**, *15*, 541–550
- (12) Baral, K. C.; Bajracharya, R.; Lee, S. H.; Han, H. K. *International Journal of Nanomedicine*, **2021**, *16*, 7535–7556.
- (13) Vesterlund, S.; Salminen, K.; Salminen, S. *Int J Food Microbiol* **2012**, *157*, 319–321.
- (14) Broeckx, G.; Vandenheuvel, D.; Claes, I. J. J.; Lebeer, S.; Kiekens, F. *International Journal of Pharmaceutics*, **2016**, *505*, 303–318.
- (15) Haraszti E. Gyógyszervegy-mérnöki MSc diplomamunka, BME, **2019**
- (16) Vivek, K.; Mishra, S.; Pradhan, R. C.; Nagarajan, M.; Kumar, P. K.; Singh, S. S.; Manvi, D.; Gowda, N. N. *Applied Food Research*, **2023**, *3*, 100248.
- (17) Pratama, R.; Melinda, K.; Muhsinin, S. *Sciences of Pharmacy* **2023**, *2*, 22–36.

- (18) Widayanti, A.; Susanah, L.; Wahyudi, P. *Pharmaciana* **2018**, *8*, 129.
- (19) Lim, D. H.; Letona, A.; Lee, M.; Lim, D.; Han, N. S.; Chung, D., *Foods* **2021**, *10*, 1600.
- (20) Konar, N.; Toker, O. S.; Oba, S.; Sagdic, O., *Trends in Food Science and Technology*, **2016**, *49*, 35–44.
- (21) Ricci, G.; Borgo, F.; Ferrario, C.; Fortina, M. G. *Adv Microbiol* **2011**, *01*, 1–6.
- (22) <https://www.nesquik.hu/termekek/instant-kakaoitalpor>
- (23) <https://www.youtube.com/watch?v=DY8wZq39wro&t=825s>
- (24) <https://www.vibra-schultheis.de/en/products/drying-cooling/agglomeration-coating.html>
- (25) Portier, C.; Vervaet, C.; Vanhoorne, V., *Pharmaceutics*, **2021**, *13*, 668.
- (26) Attila, D., *A gyógyszeres technológia alapjai*, Pécs, **2013**
- (27) Seem, T. C.; Rowson, N. A.; Ingram, A.; Huang, Z.; Yu, S.; de Matas, M.; Gabbott, I.; Reynolds, G. K. *Powder Technology*, **2015**, *276*, 89–102.
- (28) Vercruysse, J.; Córdoba Díaz, D.; Peeters, E.; Fonteyne, M.; Delaet, U.; Van Assche, I.; De Beer, T.; Remon, J. P.; Vervaet, C. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2012**, *82*, 205–211
- (29) Vercruysse, J.; Peeters, E.; Fonteyne, M.; Cappuyns, P.; Delaet, U.; Van Assche, I.; De Beer, T.; Remon, J. P.; Vervaet, C. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2015**, *89*, 239–247.
- (30) Záhonyi, P.; Fekete, D.; Szabó, E.; Madarász, L.; Fazekas, Á.; Haraszti, A.; Nagy, Z. K. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2023**, *189*, 165–173.
- (31) Domokos, A.; Pusztai, É.; Madarász, L.; Nagy, B.; Gyürkés, M.; Farkas, A.; Fülöp, G.; Casian, T.; Szilágyi, B.; Nagy, Z. K. *Powder Technol* **2021**, *388*, 70–81.
- (32) Vass, P.; Domokos, A.; Pantea, E.; Szilágyi, B.; Molnár, M.; Záhonyi, P.; Nagy, B.; Nagy, Z. K. *Drying Technology* **2023**, *41*, 492–502.
- (33) Azcarate-Peril, M. A.; McAuliffe, O.; Altermann, E.; Lick, S.; Russell, W. M.; Klaenhammer, T. R. *Appl Environ Microbiol* **2005**, *71*, 5794–5804.
- (34) Süle, J.; Körösi, T.; Hucker, A.; Varga, L. *Brazilian Journal of Microbiology*, **2014**, *45*, 1023–1030.
- (35) <https://biolab.hu/Products/Descriptions/MRS%20leves.pdf>
- (36) <https://biolab.hu/Products/Descriptions/MRS%20agar.pdf>
- (37) Hausner H. *Powder Metall*, **1967**, *13*, 7–13.
- (38) Carr R. L. *Chemical Engineering*, **1965**, *72*, 163–168.