

Hvad indeholder yoghurten af væsentlige lavmolekylære forbindelser?

Studier peger på, at det at spise yoghurt har særlige, gavnlige effekter, der mindsker risikoen for livsstilssygdomme. Vi lavede et studie for at dykke ned i, hvad det tilsyneladende er for nogle kemiske forbindelser i yoghurten, som kan forklare de biofunktionelle egenskaber.



Foto: Evan Reimer, Unsplash

og en lavere risiko for hjerte-kar-sygdomme, type 2 diabetes og fedme [1]. Disse sammenhænge er understøttet af interventionsstudier, der viser gavnlige effekter af indtagelse af fermenterede mejeriprodukter på risikofaktorer såsom blodets lipidprofil [2] og fedtindhold i leveren [3]. Men hvad ligger til grund for disse gavnlige effekter?

Mekanismerne bag gavnlige effekter

Fermenterede mejeriprodukter som yoghurt er karakteriseret ved, at der tilsættes en starterkultur under fremstillingen, og der er blevet spekuleret i, hvilken rolle starterkulturen har for de gavnlige effekter, man har forbundet med indtag af fermenterede mejeriprodukter. En mulig faktor er, at bakterierne danner bioaktive forbindelser, der bidrager til de gavnlige effekter. En anden faktor, der muligvis kan være medvirkende til at forklare de gavnlige effekter, er, at fermenterede mejeriprodukter har et højere indhold af mælkesyre og lavere pH-værdier end ikke-fermenterede mejeripro-

Af Hanne Christine Bertram¹, Søren D. Nielsen^{1,2}, Louise M.A. Jakobsen¹ og Nina R.W. Geiker^{3,4}

¹ Institut for Fødevarer, Aarhus Universitet

² Arla Food Ingredients

³ Institut for Idræt og Ernæring, Københavns Universitet

⁴ Center for Sundt Liv og Trivsel

Mælk og mejeriprodukter tilfører os essentielle makro- og mikronæringsstoffer og udgør en vigtig del af kosten.

På det seneste er der desuden opstået en stigende interesse for, om indtag af mejeriprodukter også er forbundet med biofunktionelle effekter. Især fermenterede mejeriprodukter har fået opmærksomhed på baggrund af deres tilsyneladende potentiale til at fremme menneskers sundhed. Dette hænger sammen med, at epidemiologiske undersøgelser har vist sammenhænge mellem indtag af fermenterede mejeriprodukter

■ ACE og ACE-hæmning

ACE står for "Angiotensin Converting Enzyme" (ACE), og ACE-hæmmere hæmmer enzymet, som er ansvarlig for omdannelsen af angiotensin I til angiotensin II. Angiotensin II binder til receptorer på glatmuskelceller i blodkarsvæggene. Dette fører til, at blodkarrene trækker sig sammen og blodtrykket stiger. Ved at hæmme denne omdannelse virker ACE-hæmmere blodtryksænkende.



Figur 1. De fire mejeriprodukter, der blev analyseret for indhold af metabolitter og peptider: 1) En konventionel sødmælk, 2) en konventionel sødmælksyoghurt (der blev analyseret både umiddelbart efter fremstilling og efter 14 dage på køl), 3) samme sødmælksyoghurt, men varmebehandlet for at inaktivere starterkulturen og 4) en kemisk syrnet mælk.

dukter, hvilket også vil kunne indvirke på kemien i mave-tarm-kanalen og dermed ændre struktur og tilgængelighed af tilstedeværende kostkomponenter.

For at belyse, hvilke reelle forskelle der findes i mejeriprodukters indhold af lavmolekylære forbindelser med mulige bioaktive funktioner, lavede vi

et studie, hvor fire forskellige mejeriprodukter blev analyseret for deres indhold af metabolitter og peptider [4]. De fire mejeriprodukter bestod af konventionel sødmælk, en kemisk syrnet mælk, sødmælksyoghurt, samt en sødmælksyoghurt, der efterfølgende blev varmebehandlet med henblik på at inaktivere starterkulturen (figur 1).

Sødmælksyoghurten, fremstillet med en startkultur bestående af *S. thermophilus* og *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, blev endvidere analyseret både kort tid efter fremstilling og efter 14 dages opbevaring på almindelig køl ved 4°C. Produkterne havde stort set identisk indhold af fedt (3,5 g/100 g) og protein (3,4-3,8 g/100 g), mens kulhydratindholdet var lidt højere i den kemisk syrnede mælk (5,8 g vs. 3,5 g/100 g, hvor tilsætning af stivelse var nødvendig af hensyn til tekturen).

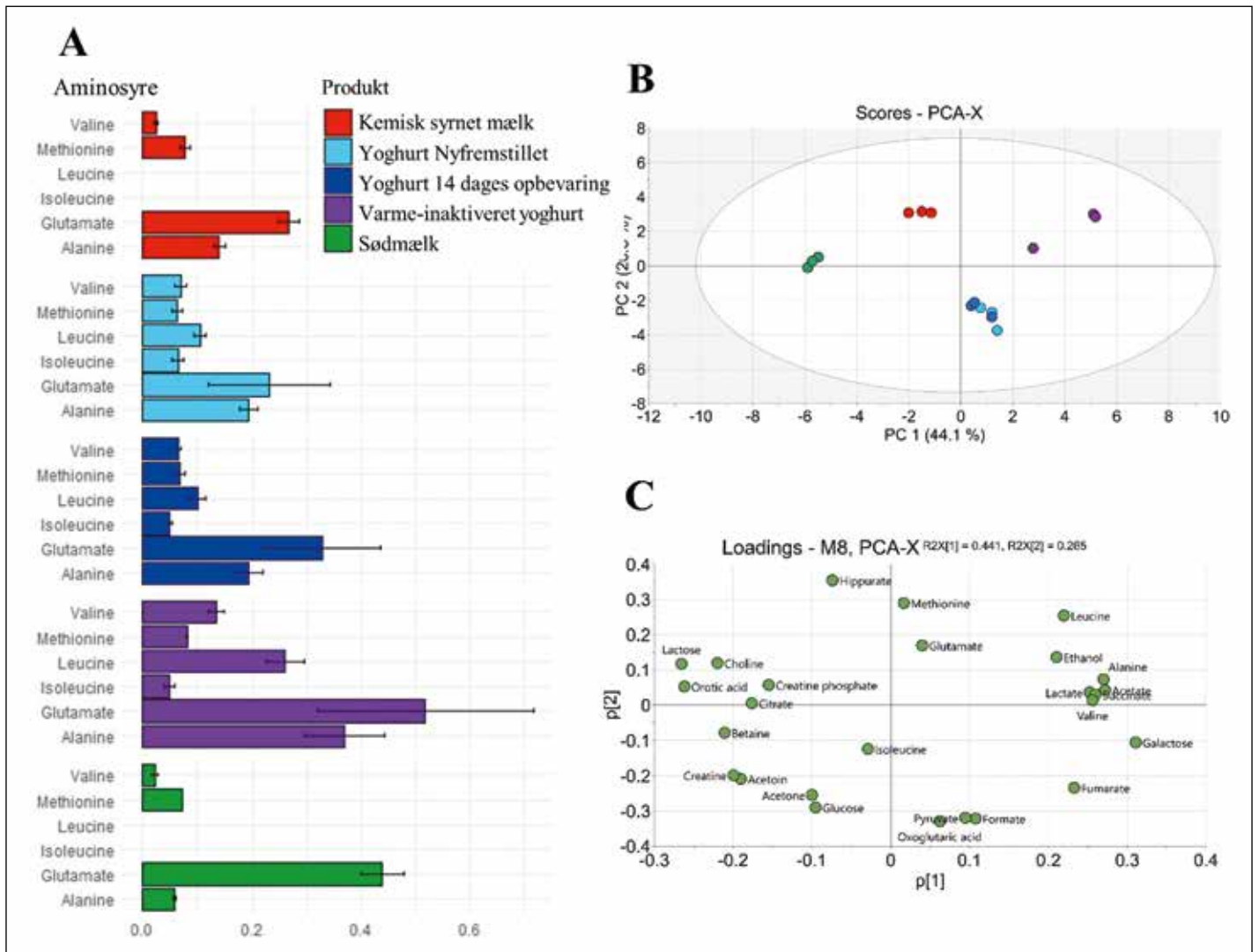
Metabolomics

Metabolitter i de undersøgte mejeripro-

dukter blev analyseret ved hjælp af metabolomics, hvor proton NMR-spektroskopi udgjorde den analytiske platform. I alt 29 metabolitter blev identificeret og kvantificeret. De kvantificerede forbindelser omfattede aminosyrer, organiske syrer, produkter, der indgår i citronsyrecyklus og glykaner. Principal component analyse (PCA) blev gennemført på metabolitkoncentrationerne (figur 2).

Samlet set udviste de fermenterede produkter en mere kompleks metabolitprofil end det kemisk syrnede produkt og sødmælk. Sammenlignet med ikke-fermenterede produkter (sødmælk og kemisk syrnet mælk) var begge de fermenterede yoghurter (fermenteret og varme-inaktiveret fermenteret) karakteriseret ved højere niveauer af forgrenede aminosyrer (leucin, isoleucin og valin), citronsyrecyklus-produkter samt produkter fra sakkarytisk aktivitet.

Laktose var det primære kulhydrat til stede i mejeriprodukterne, og niveauet

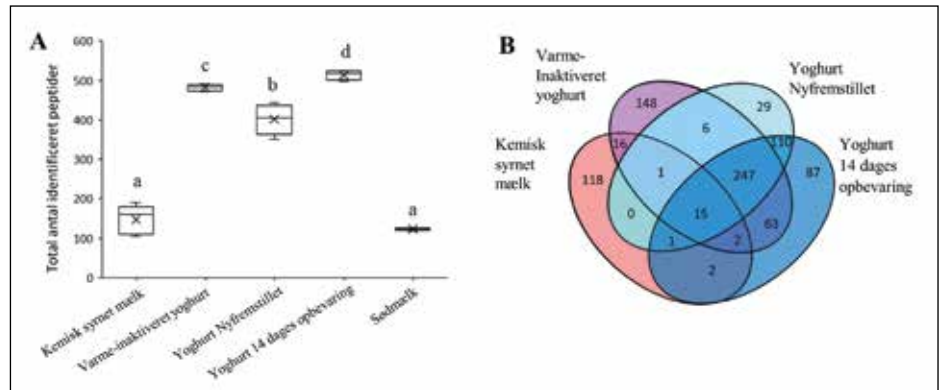


Figur 2. Koncentrationer af metabolitter bestemt i mejeriprodukterne samt resultater fra principal component analyse (PCA) baseret på samtlige metabolitter detekteret ved hjælp af proton NMR-spektroskopi.

var højest i sødmælk (217 mM) og kemisk syrnede mælk (186 mM), mens det var lavere i de to mikrobielt fermenterede yoghurter (fermenteret (125 mM) og varmeinaktiveret fermenteret (112 mM)). Dette hænger sammen med, at kulstof fra laktose udnyttes af starterkulturen, som ved fermentering genererer mælkesyre og andre organiske syrer. Tilstedeværelsen af galaktose i fermenterede yoghurter afspejler den mekanisme, som starterkulturen anvender til laktosefermentering; laktose transporteres ind i bakteriecellerne, hvor det hydrolyseres til glukose og galaktose. Mens glukose metaboliseres yderligere inde i cellerne, udskilles det meste galaktose, da det ikke er det foretrukne substrat for bakterierne i yoghurtkulturen [5]. Mælkesyre er den primære metabolit, der dannes af mælkesyrebakteriers fermentering, men i den kemisk syrnede mælk blev mælkesyre tilsat som kemisk syrningsmiddel. Bortset fra sødmælk var mælkesyre til stede i sammenlignelige koncentrationer i de øvrige mejeriprodukter. Køleopbevaring af den fermenterede yoghurt ændrede ikke den metaboliske profil markant.

Peptidomics

Mejeriprodukternes indhold af peptider blev analyseret ved hjælp af peptidomics med massespektrometri som analytisk platform. Det samlede antal peptider identificeret i den fermenterede sødmælksyoghurt var 402, og dette antal steg til 514 peptider efter 14 dages køleopbevaring, hvilket sandsynligvis er et resultat af en fortsat fermenteringsaktivitet af starterkulturen under opbevaring. Yoghurten, der blev varmeinaktiveret efter en fermenteringsperiode på 13 timer (42°C), viste



Figur 3. Resultater fra peptidanalyser. A). Det totale antal af identificerede peptider i de fire forskellige mejeriprodukter hvor sødmælksyoghurt blev analyseret både umiddelbart efter fremstilling og efter 14 dages opbevaring på køl (4°C). B). Venn diagram, der viser antallet af peptider identificeret i de forskellige mejeriprodukter og overlap mellem mejeriprodukterne.

sig at indeholde 482 peptider i gennemsnit (figur 3A), og lignede således en fermenteret yoghurt opbevaret på køl i 14 dage med hensyn til peptidindhold. Dette fund tyder på, at den proteolytiske aktivitet steg på grund af termisk denaturering af proteiner, eller at opvarmningen øgede permeabiliteten af *Lactobacillus* cellevæg med en resulterende øget frigivelse af proteolytiske enzymer i yoghurten. De fermenterede yoghurtprøver indeholdt signifikant flere peptider (op til 354 procent) med en signifikant højere totalmængde end kemisk syrnede mælk, som havde et tilsvarende antal peptider som sødmælk; i gennemsnit henholdsvis 145 og 123 identificerede peptider (figur 3A og 3B).

Peptider, der blev identificeret i mindst 50 procent af replikaterne fra en yoghurt, blev sammenlignet mellem de fire mejeriprodukter, der enten var kemisk syrnede eller fermenteret (figur 3B). Kun 15 peptider overlappede mellem alle fire produkter, mens 247 peptider

overlappede mellem de tre mikrobielt fermenterede yoghurter. Fermenteret yoghurt ved 1 og 14 dages opbevaring havde 110 peptider til fælles, som ikke fandtes i nogle af de andre produkter. Kemisk syrnede mælk og varmeinaktiveret fermenteret yoghurt havde det højeste antal peptider, der var unikke for det specifikke produkt, hvilket betyder, at peptidprofilen er ret forskellig for henholdsvis de kemisk syrnede, de fermenterede og de varmeinaktiverede fermenterede produkter.

Peptidernes egenskaber

De identificerede peptider til stede i mejeriprodukterne blev sammenlignet for sekvenshomologi (>80% sekvenslighed) med kendte bioaktive peptider under anvendelse af den såkaldte Milk Bioactive Peptide Database (MBPDB, <http://mbpdb.nws.oregonstate.edu/>) [6] (tabel 1). Af de 402 identificerede peptider i fermenteret yoghurt havde 145 peptider en høj sekvenshomologi

Produkt	Blodtryks-sænkende	Anti-mikrobielt	DPP-IV inhibitorisk	Antioxidant	Immun-modulatorisk	Andet
Kemisk syrnede mælk	32 (+13)	36 (+3)	1	10	14	22
Varmeinaktiveret yoghurt	100 (+123)	51 (+15)	6	64	14	60
Yoghurt Nyfremstillet	69 (+108)	45 (+11)	3	56	11	41
Yoghurt 14 dages opbevaring	80 (+126)	57 (+18)	0	65	12	58
Sødmælk	24 (+11)	35 (+4)	0	9	12	17

Tal i parentes angiver antallet af peptider, der har bioaktivt potentiale, men som ikke blev fundet i MBPDB databasen.

Tabel 1. Antal af homologe bioaktive peptider, der blev identificeret og prædikeret i mejeriprodukterne.

med kendte bioaktive peptider. Efter 14 dages køleopbevaring af yoghurten steg antallet af peptider med homologi med kendte bioaktive peptider til 174. Af de 482 peptider identificeret i varmeinaktiveret fermenteret yoghurt var 181 meget homologe med kendte bioaktive peptider, flere af disse med mere end én kendt biologisk funktion. Flere af peptiderne, der ikke matchede kendte bioaktive peptider, blev prædikteret at indeholde potentiel bioaktivitet med blodtrykssænkende effekter (ACE-hæmning) og antimikrobiel aktivitet (tabel 1).

Konklusion

Vores studie viste, at yoghurt indeholder langt flere peptider end mælk. Fermentering eller kemisk syring resulterede i et højere bioaktivt peptidpotentiale. I det ikke-varmeinaktiverede fermenterede yoghurtprodukt var der en kontinuerlig dannelse af peptider over en 14 dages køleopbevaringsperiode. Varmeinaktivering af en fermenteret yoghurt forlænger holdbarheden af et yoghurtprodukt, og det er derfor spændende, at vi fandt ud af,

at varmebehandling af den fermenterede yoghurt viste samme eller højere niveau af peptider end den ikke-varmeinaktiverede yoghurt. Som forventet indeholdt fermenteret yoghurt mindre laktose, men mere galaktose og højere niveauer af organiske syrer fra sakkarolytisk fermentering. Selvom der stadig er mange uafklarede faktorer, såsom om peptider stadig har bioaktive egenskaber efter at have passeret mave-tarm-kanalen, kan de identificerede forskelle i indholdet af lavmolekylære forbindelser i henholdsvis mælk og yoghurt formentlig bidrage til at forklare, at produkterne indøver forskellig effekt på vores sundhed, når vi indtager dem.

E-mail:
Hanne Christine Bertram:
hannec.bertram@food.au.dk

Nærværende studie var en del af projektet "FerMets", der er finansieret af Arla Food for Health og Mælkeafgiftsfonden.

Referencer

1. Savaiano, D., Hutkins, R.W. 2021. Yogurt cultured fermented milk, and health: a systematic review. *Nutr Reviews*, 79, 599-614.
2. Sadzadeh-Yeganeh, H., Elmadfa, I., Djazayeri, A., Jalali, M., Heshmat, R., Chamary, M. 2010. The effects of probiotic and conventional yoghurt on lipid profile in women. *Br J Nutr*, 103, 1778-1783.
3. Chen, Y., Feng, R., Yang, X., Dai, J., Huang, M., Ji, X., Li, Y., Okekunle, A.P., Gao, G., Onwuka, J.U. et al. 2019. Yogurt improves insulin resistance and liver fat in obese women with nonalcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*, 109, 1611-1619.
4. Nielsen, S.D., Jakobsen, L.M.A., Geiker, N.R.W., Bertram, H.C. 2022. Chemically acidified, live and heat-inactivated fermented dairy yoghurt show distinct bioactive peptides, free amino acids and small compounds profiles. *Food Chemistry*, 376, article no 131919.
5. Sorensen, K. I., Curic-Bawden, M., Junge, M. P., Janzen, T., & Johansen, E. 2016. Enhancing the Sweetness of Yoghurt through Metabolic Remodeling of Carbohydrate Metabolism in *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Appl Environ Microbiol*, 82, 3683-3692.
6. Nielsen, S.D., Beverly, R.L., Qu, Y.Y., Dallas, D.C. 2017. Milk bioactive peptide database: A comprehensive database of milk protein-derived bioactive peptides and novel visualization. *Food Chemistry*, 232, 673-682



Gram BioLine - køle- og fryseudstyr til temperaturkritisk opbevaring.

Made in Denmark 


info@gram-bioline.com | www.gram-bioline.com


Biostorage you can depend on