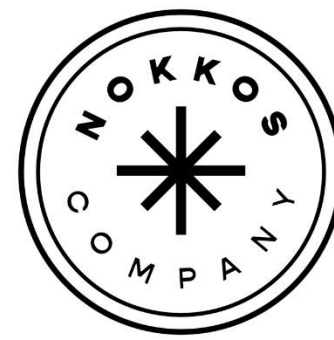


Arctic Bio Valley



LUMENE



ärmätti

Kombucha-juomien probioottisuus?

**LuoPro – Luonnontuotteet, probiootit ja kosmetiikan aktiivisuus
Arktisessa Biolaaksossa**

Antonina Shvetsova, Jasmiina Haverinen, Pekka Kilpeläinen, Tiina Tolonen, Tuomas Niskanen



Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020



Esityksen sisältöä

- Ketä me ollaan?
- Miksi LuoPro-hanke on?
- Kombuchasta yleisesti.
- Meidän tutkimus kombuchasta.



MITY ja Kajaanin yliopistokeskus

- **MITY on Oulun yliopiston mittaustekniikan yksikkö Kajaanissa.**
 - Kehittää mittalaitteita ja hyödyntää olemassa olevia mittalaitteita.
- Vahva ”biologiapuoli”, koska Sotkamon biotekniikan laboratorio muutti Kajaaniin vuonna 2014.
 - Erilaiset luonnon raaka-aineet, mikrobiologia, solutestit, uutot,...



Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020



Euroopan unioni
Euroopan aluekehitysrahasto

LuoPro-hanke

- **Tavoitteet:**
 - Kehittää menetelmiä kosmeettisten ja probioottisten valmisteiden laadun tutkimiseen Kajaanin yliopistokeskuksella.
 - Tukea uuden kosmeettisten ja probioottisten valmisteiden valmistusta.

Arctic Bio Valley

LUMĚNE



ärmätti



Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020



YLEISTÄ KOMBUCHASTA

Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020



Euroopan unioni
Euroopan aluekehitysrahasto

Mikä ihmeen kombucha?

- **Kombucha = fermentoitu tee.**
 - Tee, johon on lisätty hiiva-bakteeri-scooby (juuri; ymppe).
- **Ilmeisemmin yli 2000 vuotta vanha kiinalainen juoma.**
 - Suomessa suosion vuodet ovat 1920–1930, 1960-luvun loppu ja nyt 2020-luku.

Lähde ja lisätietoja: <https://www.mdpi.com/2673-8007/2/1/5> ja [Kombucha – kaikki valmistuksesta ja paljon reseptejä.](#)

Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020

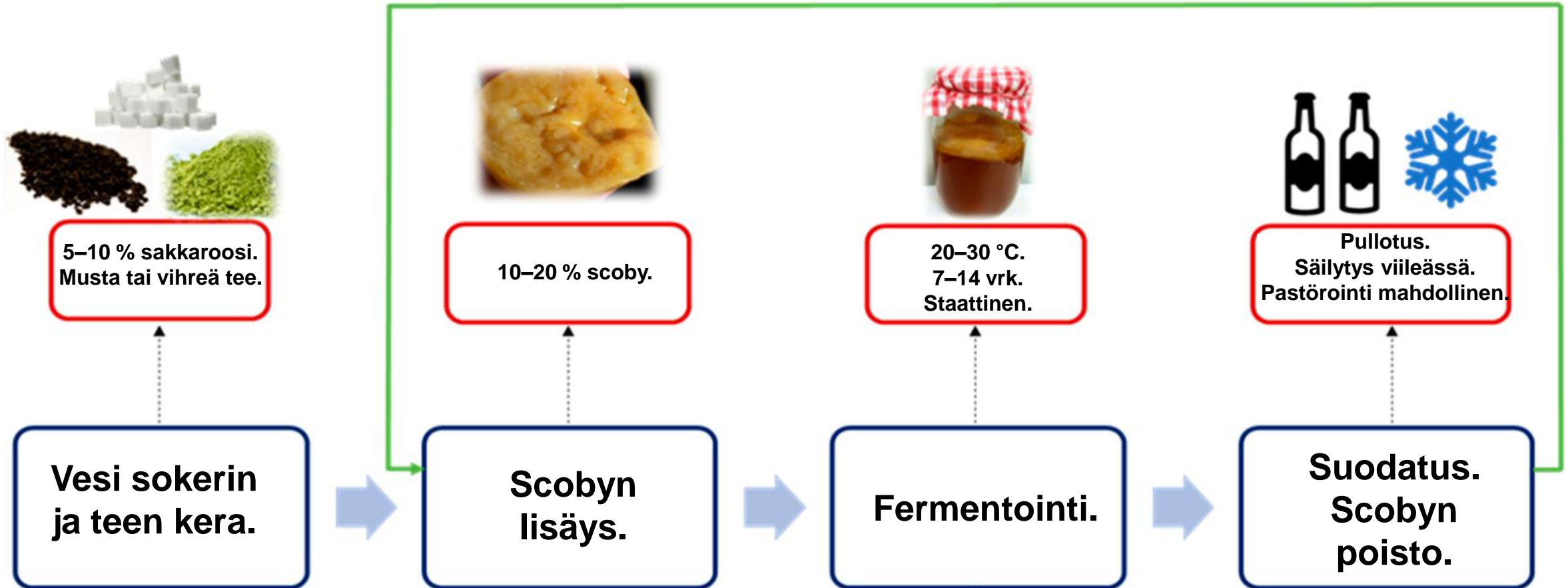


Euroopan unioni
Euroopan aluekehitysrahasto

Kuvan lähde:
<https://unsplash.com/s/photos/kombucha>.

Kombuchan valmistus

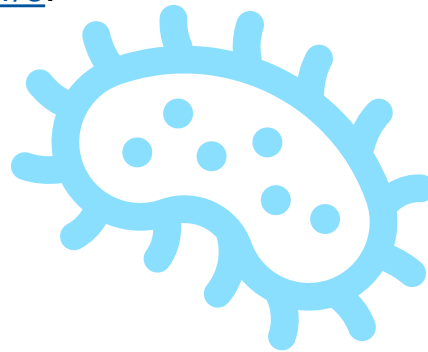
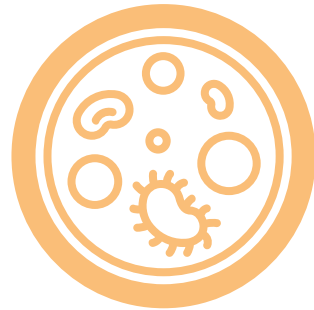
Scoby seuraavaan erään.



Kombuchan mikrobit

- Päämikrobit ovat:
 - Etikkahappobakteerit (*Komagataeibacter*, *Acetobacter* ja *Gluconobacter*),
 - Hiivat (*Zygosaccharomyces* spp., *Saccharomyces* spp. ja *Brettanomyces*).

Lähde ja lisätietoja: <https://www.mdpi.com/2673-8007/2/1/5>.



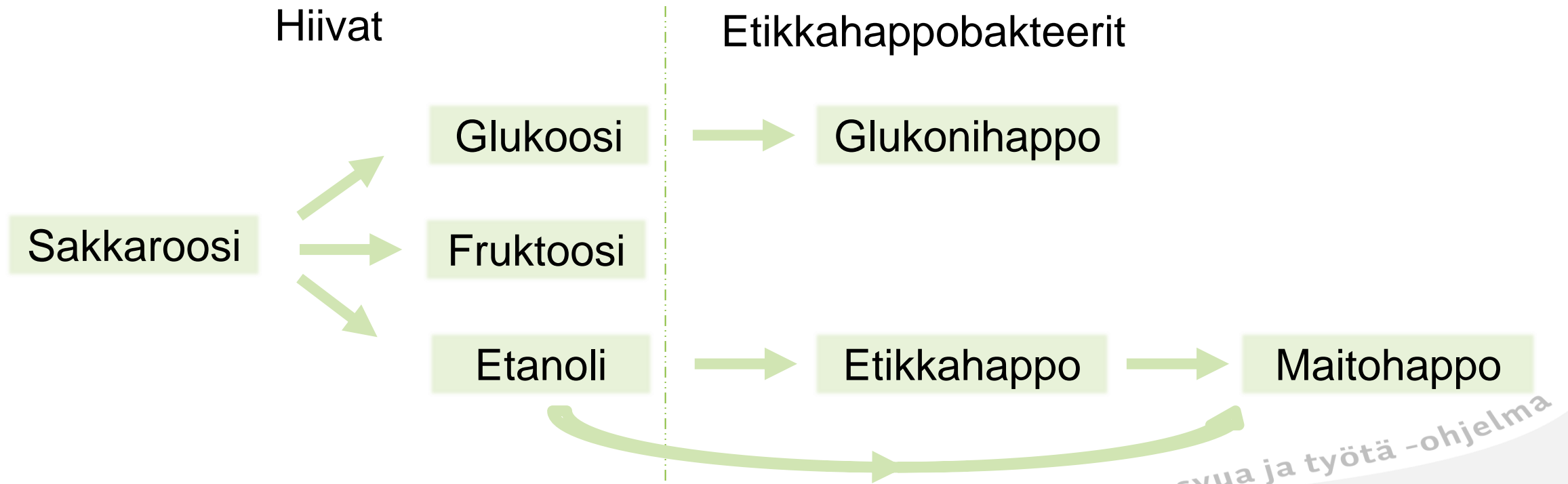
Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020



Kombucha ja käymisen metabolia

- Metabolia:



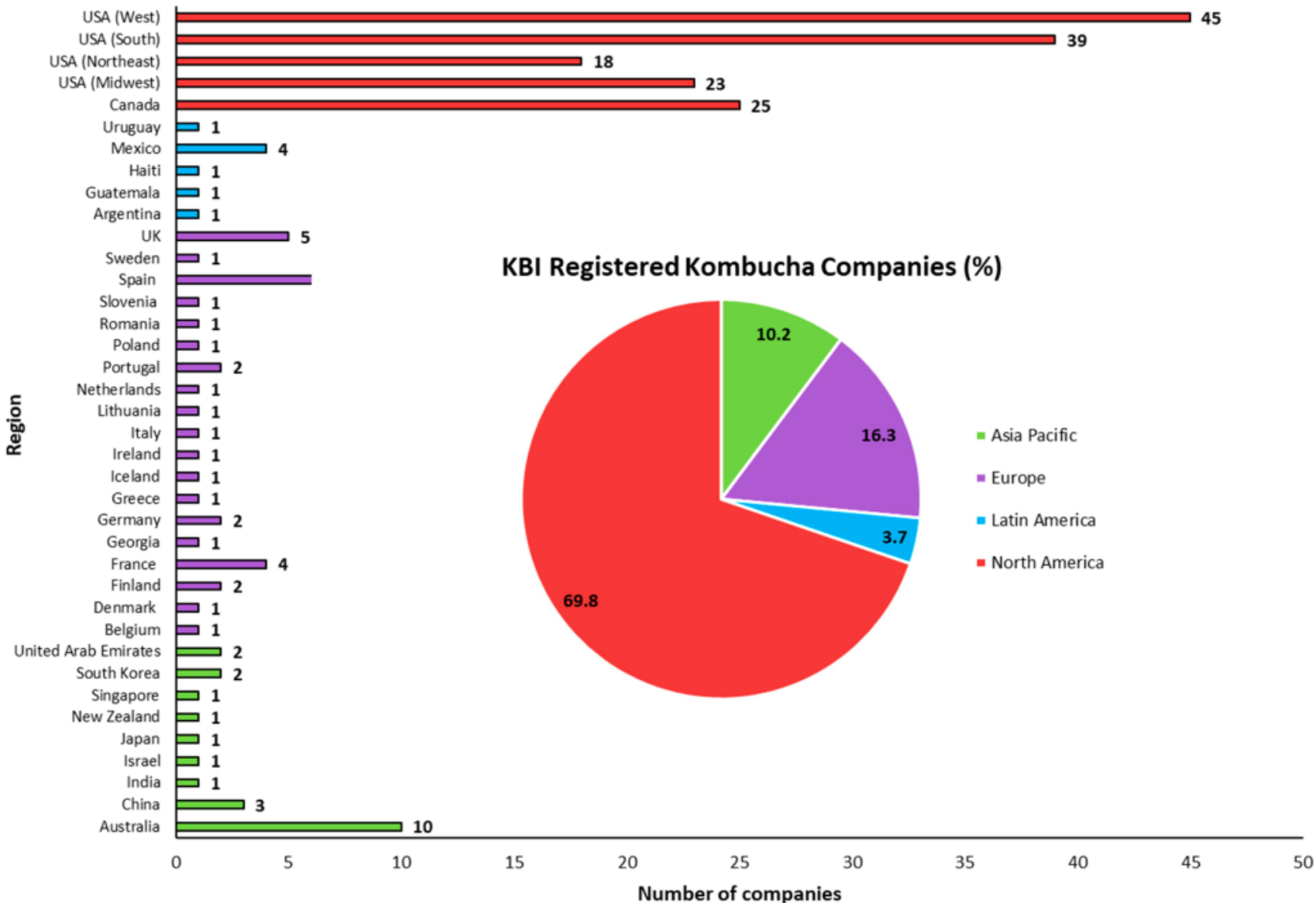
Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Lähde ja lisätietoja: <https://www.mdpi.com/2673-8007/2/1/5> ja <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.032>.

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020



Kombucha-yritykset maailmalla



HUOM! Vain tuottajajärjestö KBI:hin liittyneet yritykset.

Lähde ja lisätietoja:

<https://www.mdpi.com/2673-8007/2/1/5>

Kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
 2014–2020



Euroopan unioni
 Euroopan aluekehitysrahasto

Kombuchan terveellisyys

- **Paljon on positiivisia terveysväittämiä mutta kontrolloidut ihmiskokeet puuttuvat.**
 - Immuunijärjestelmän parahtuminen.
 - Kolesterolin hallinta.
 - Syövän estäminen.
 - Tulehdusten estäminen.
 - Verensokeritason hallinta.
- **On myös negatiivisia terveysväittämiä.**
 - Hammasterveys.
 - Maksa.



Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Lähde ja lisätietoja:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1047279718307385> ja

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00016357.2023.2199848?src=>

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020



Euroopan unioni
Euroopan aluekehitysrahasto

KOMBUCHAN PROBIOOTTISUUDEN TUTKIMINEN KAJAANIN YLIOPISTOKESKUKSELLA

Kestävä kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020



Euroopan unioni
Euroopan aluekehitysrahasto



Tutkittavat tuotteet

- Nokkos Companyn tuotteet olivat tutkimuksen kohteena.
 - <https://nokkos.co/en>.
- Nokkospohjaisia luonnonyrteillä höystettyjä Kombucha-juomia.

Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020



Euroopan unioni
Euroopan aluekehitysrahasto

Tutkimusasetelma

Selviävätkö mikrobit
hapettomissa
olosuhteissa
suolistossa?



Entäs ne mikrobit,
joita ei voida todentaa
maljakasvatuksilla?

Tuottavatko
mikrobit
hyödyllisiä
yhdisteitä?

Selviävätkö mikrobit
ruuansulatushapoista
suolistossa?

Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020



Käytetyt maljat

- **Perusmaljauksista lähdettiin liikkeelle.**
 - **AAB = etikkahappobakteerit.**
 - **MRS = maitohappobakteerit.**
 - **PCA = kaikki mikrobit.**
 - **PDA = hiivat.**
 - **YGC = hiivat.**

HUOM! Myöhemmin on ollut käytössä myös CaCO_3 - ja ABS-maljat.



Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020



Euroopan unioni
Euroopan aluekehitysrahasto

Esimerkki maljausten tuloksista

- Plate Count + mikroskopointi:
 - B = bakteeri, Y = hiiva, Y/B = kasvaa molempia.

(pmy/mL)	Pohjatuote	Nokkoskeite	Nokkonen	Kuusenkärkkä Reishi	Metsämarja	Super_4	Super_5
MRS	12000 (B)	-	78000 (B)	180000* (B)	-	230 (B)	-
CaCO ₃	180 (B)	1700 (B)	90 (B)	270 (B)	10 (B)	-** (B)	15 (B)
ABS	3700 (B)	-	350 (B)	21000 (B)	43 (B)	25 (B)	-
YGC	3600000 (Y)	127 (B)	26000 (Y)	25000 (Y)	19000 (Y)	260 (Y/B)	1000 (Y)
PCA	2900000 (Y)	1500 (B)	89000 (Y/B)	38000 (Y/B)	20000 (Y)	30 (B)	890 (Y)

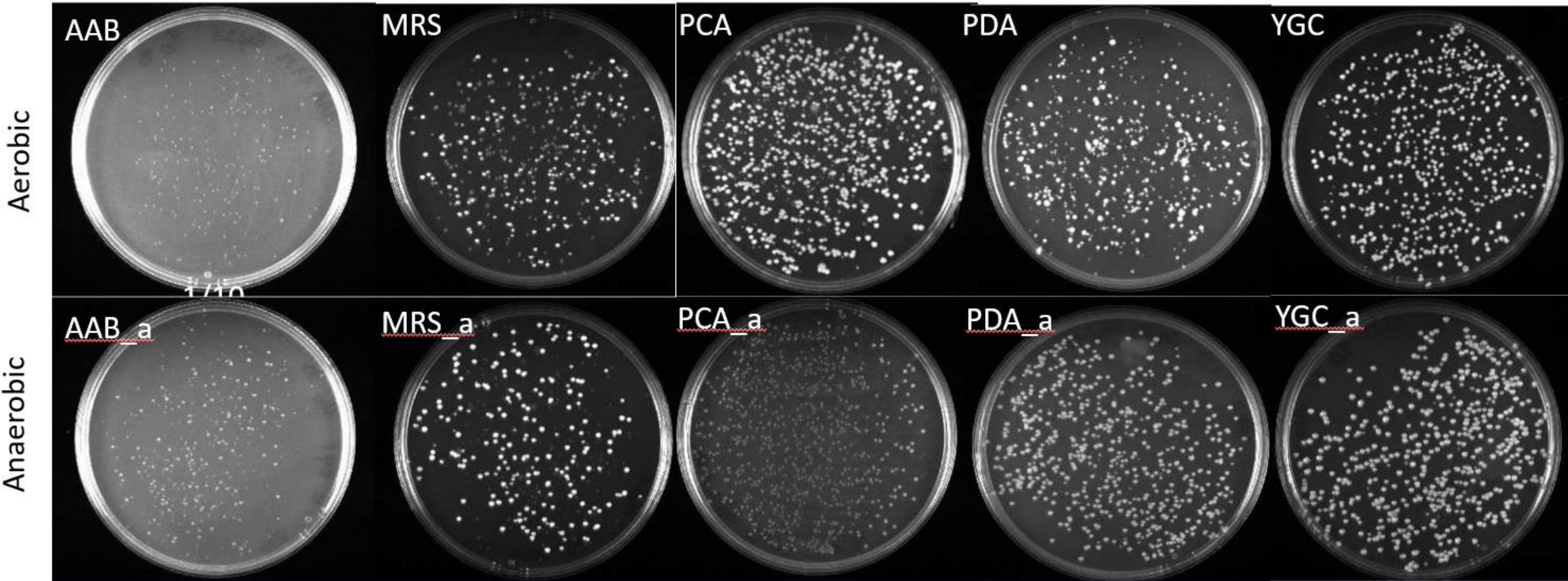
Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020



Selviävätkö mikrobit hapettomissa olosuhteissa?

- Maljaukset tehtiin hapettomassa ja hapellisessa ympäristössä.
 - Eroja oli jonkin verran.
 - Tulosten perusteella moni mikrobi todennäköisesti selviävät suoliston hapettomassa ympäristössä.



Selviävätkö mikrobit ruuansulatushapoista suolistossa?

- Sappi- ja vatsahappotesteillä testattiin, pysyykö kombucha-mikrobit elossa suolistossa.
 - Altistusaika oli kolme tuntia per happo eli tyypillinen ruuan viipymä per ”osasto”.
- Proseduuri oli seuraava:
 1. Kombuchan sekoitus hapon kanssa niin, että saavutettiin fysiologinen pH.
 2. Maljaukset altistuksen jälkeen.
 3. Sekvensointi.

HUOM! Happortoaltistuksia ei ketjutettu.



Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020



Euroopan unioni
Euroopan aluekehitysrahasto

Sekvensoinnilla täsmämäärittystä

- Sekvensoinnin perusteella oli nähtävillä hyvin tyypillinen kombucha-mikrobisto.
 - Maitohappobakteereja ei paljastunut juurikaan eikä myöskään mitään apteekkiprobioottivalmisteiden lajeja.
 - *Acetobacter fabarum*, *A. tropicalis*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Gluconobacter potus*, *Issatchenkia occidentalis*, *Komagataeibacter saccharivorans*, *Lactobacillus plantarum*, *Pichia kudriavzevii*, *P. occidentalis*, *Saccharomyces cerevisiae*.



Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020



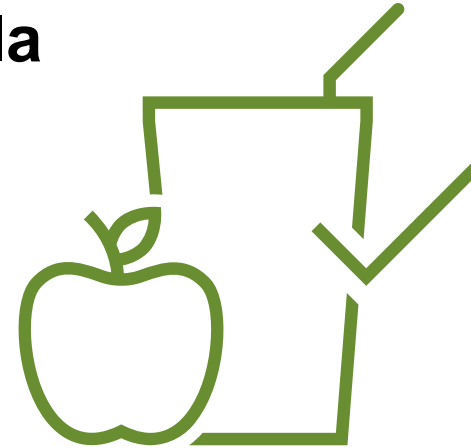
Euroopan unioni
Euroopan aluekehitysrahasto

Tuottavatko mikrobit hyödyllisiä yhdisteitä?

- **Orgaanisia happoja mitattiin (seuraavalla sivulla tarkemmin).**
 - Korreloivat *Plate Count* -luvun kanssa.
 - Eräkohtaiset erot ovat kuitenkin suuria.
 - Maitohappoa oli tosiaan aika paljon, vaikka maitohappobakteereja havaittiin maljoilla pieniä määriä ja sekvensoinnissa yksi laji, *Lactobacillus Plantarum*.
 - Muista metabolia-reitit etikkahappo-bakteerilla!

→ **Vaikka mikrobit kuolisivat, voi heidän tuottamilla metaboliiteilla olla vaikutusta.**

PS. ORAC (kokonaisantioksidantti) korreloi taas Kombucha-”höysteiden” kanssa.



Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020



Kombuchan tutkiminen Kajaanin yliopistokeskuksella

- Mitatut orgaaniset hapot ja niiden havaitut pitoisuudet:

Happo	Pitoisuus juotavassa tuotteessa
Etikkahappo	1000 – 2500 mg/L
Glukoni-/glukoronihappo	150 – 220 mg/L
Maitohappo	100 – 1250 mg/L
Muurahaishappo	<i>Ei havaittu</i>
Omenahappo	5 – 500 mg/L
Propionihappo	<i>Ei havaittu</i>
Sitruunahappo	370 – 470 mg/L
Sukkiinihappo	60 – 180 mg/L
Sulfaatti	Alle 30 mg/L
Voihappo	<i>Ei havaittu</i>

Entäs ne mikrobit, joita ei voida todentaa maljakasvatuksilla?

- **Bakteeristoa yritettiin hahmottaa myös DNA-profiloinnin (fragmenttianalyysi) kautta mutta tuloksellinen anti oli pieni.**
 - Profilointi vahvisti, että näytteissä oli paljon etikkahappobakteeria ja vähän maitohappobakteereja.
 - Hiivojen suuri määrä häiritsi analysointia.
 - Näytteen suodatuksella pääsee mahdollisesti hiivahaasteesta eroon.

Mitä DNA-profilointi tarkoittaa? Prosessi etenee niin, että ensin tehdään DNA-eristys, sitten se monistetaan (PCR) ja lopuksi ”leikellään” pätkiksi entsyymeillä. Koska alukkeissa on käytetty kahta eri väriä, saadaan molemmille väreille ominainen DNA-pätkien jakauma. Parhaimmillaan päästään lajitason tunnistukseen.



Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020



Euroopan unioni
Euroopan aluekehitysrahasto

Yhteenveto Kajaanin yliopistokeskuksen tutkimuksesta

- Tutkittavat kombuchat (nokkonen + luonnonyrstit) olivat tyypillisiä kombucha-tuotteita isossa kuvassa.
- **Probioottisuussignaaleja saatiin useampi:**
 - Mikrobit voivat selvitä ruuansulatusjärjestelmän haastavista oloista.
 - Mikrobit voivat elää hapettomissa ympäristössä eli pysyä hengissä suolistossa.
 - Mikrobit tuottavat orgaanisia happoja, joilla voi olla terveysvaikutuksia.
- Mikrobit eivät kuitenkaan näytä kokonaisantioksidatiivisuuteen (ORAC) vaikuttavan.
 - ORAC määräytyy sen mukaan, mikä maku on teessä.

Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020



Euroopan unioni
Euroopan aluekehitysrahasto

Kiitos!



Lisätietoja:

Tuomas Niskanen

Tutkija, projektipäällikkö,
tuomas.niskanen (at) oulu.fi



Kestävää kasvua ja työtä -ohjelma

Vipuvoimaa
EU:lta
2014–2020

