

SZAKDOLGOZAT

Mocsári Evelin Lizetta

2024



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Budai Campus
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék
Biomérnök alapképzési szak

Tejsavbaktériumokkal fermentált almalé antimikrobás hatásának vizsgálata

Belső konzulens: Dr. Bujna Erika
egyetemi docens

**Belső konzulens
intézete/tanszéke:** MATE, Élelmiszertudományi és
Technológiai Intézet,
Biomérnök és Erjedésipari
Technológia Tanszék,
Budai Campus

Készítette: Mocsári Evelin Lizetta

Budapest
2024.

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzések.....	3
2. Irodalmi áttekintés	5
2.1 Probiotikumok	5
2.2 Tejsavbaktériumok	6
2.2.1 <i>Lactobacillus</i> nemzetség.....	6
2.2.2 <i>Lactobacillus</i> -ok hasznos tevékenysége az élelmiszeriparban	7
2.2.3 <i>Lactobacillus</i> -ok antimikrobás anyagcseretermékei	9
2.2.3.1 Szerves savak	9
2.2.3.2 Hidrogén-peroxid	10
2.2.3.3 Szén-dioxid	10
2.2.3.4 Bakteriocinek	10
2.3 <i>Lactobacillus</i> -ok biogén amin termelése.....	12
2.4 Növényi alapú probiotikus italok.....	13
2.5. Az alma és az almalé általános jellemzői.....	15
2.5.1. Beltartalmi jellemzők.....	15
2.5.2. Egészségügyi hatása	16
2.5.3. Fermentált almalé	16
3. Anyagok és módszerek	18
3.1 Felhasznált mikroorganizmusok.....	18
3.2. Felhasznált tápközegek	18
3.2.1. Laboratóriumi tápközegek.....	18
3.2.2. Gyümölcs alapú tápközeg.....	20
3.3. Alkalmazott módszerek	20
3.3.1. Mikroorganizmusok szaporítása.....	20
3.3.1.1. <i>Lactobacillus</i> törzsek szaporítása	20
3.3.1.2. Kórokozó törzsek szaporítása	21
3.3.2. Almalé fermentáció	21
3.3.3. pH mérés	21
3.3.4. Sejtszám meghatározás	22
3.3.5. Fermentált almalé liofilizálása.....	22
3.3.6. Antimikrobiális hatás vizsgálata agar-lyuk diffúziós módszerrel.....	22
3.3.7. Kórokozók előlése.....	22
3.3.8. Hisztamin termelés vizsgálata	23
3.3.9. Fermentált almalé titrálható savtartalmának meghatározása.....	24

4. Eredmények és értékelésük	25
4.1. Almalé fermentáció <i>Lactobacillus</i> törzsekkel	25
4.1.1. pH értékek változása	25
4.1.2. Titrálható savtartalom meghatározása	26
4.1.3. Sejtszámok alakulása	27
4.1.4. Termelt antimikrobás anyag hatásának vizsgálata patogén mikroorganizmusokkal szemben	28
4.2. Antimikrobás anyag termelés időbeli alakulásának vizsgálata	33
4.2.1. pH értékek változása	33
4.2.2. Termelt antimikrobás anyag hatásának vizsgálata patogén mikroorganizmusokkal szemben	34
4.3. <i>Lactobacillus</i> törzsek antimikrobás anyag termelésének fokozása.....	37
4.4 <i>Lactobacillus</i> -ok hisztamin termelése	40
5. Következtetések és javaslatok.....	43
6. Összefoglalás	45
7. Irodalomjegyzék	48
8. Ábrák és táblázatok jegyzéke	54
Köszönetnyilvánítás.....	56

1. Bevezetés és célkitűzések

Az egészség az egyik legfontosabb dolog az emberek számára. Ahogy a mondás is tartja „Az vagy, amit megeszel”. Az utóbbi időben egyre több ember foglalkozik egészségi állapotával, odafigyelnek az étkezésre, ha idejük engedi, sportolnak is. Mindez azért fontos, mivel kutatások is bizonyítják, hogy megfelelő étrend követésével és aktív testmozgással megelőzhetők a különféle megbetegedések. Ha az immunrendszer egészségéről és a bélflóra egyensúlyáról beszélünk, mindenkinek eszébe jutnak a probiotikumok, melyek közé számos tejsavbaktérium sorolható.

A tejsavbaktériumok, főként a *Lactobacillus*-ok, probiotikus szerepük mellett szerepet játszanak a tartósítási folyamatokban, antimikrobiális hatásuk is egyre ismertebb. A *Lactobacillus* fajok szaporodása alatt olyan anyagcseretermékek keletkeznek, amelyek hozzájárulnak egyes kórokozók elpusztításához, vagy visszaszorításához. Ilyen anyagok a különböző szerves savak, a hidrogén-peroxid és a bakteriocinek. Ezen okokból kifolyólag mindenképp hasznos és ajánlatos tejsavbaktériumokat tartalmazó élelmiszereket fogyasztanunk. A piacon azonban probiotikus termékek közül a tejalapúak vannak többségében, amit sajnos nem mindenki fogyaszt, fogyaszthat. Ezért nélkülözhetetlen olyan probiotikus termékek fejlesztése is, amelyek zöldség, gyümölcs, vagy gabona alapúak.

A sok pozitívum mellett azonban említést érdemel, hogy a fermentáció melléktermékeként bizonyos biogén aminok, például hisztamin termelődhet, amely túlzott jelenléte élelmiszer-intoleranciát, vagy egyéb egészségügyi problémákat okozhat az arra érzékeny egyéneknél.

Mindezeket figyelembe véve érdemesnek gondoltam több szempontból is megvizsgálni *Lactobacillus*-ok vegyes kultúrák fermentációját almalében.

Dolgozatom célja volt:

- a téma szakirodalmi körülményeinek, feldolgozása;
- a kiválasztott törzsek vegyes kultúrák fermentációjának nyomon követése almalében;
- a fermentáció során a titrálható savtartalom meghatározása és a pH alakulásának nyomonkövetése
- az almalében fermentált tejsavbaktériumok antimikrobás hatásának vizsgálata különböző patogén törzsekkel szemben;
- az antimikrobás hatás esetleges fokozásának kimutatása elölt kórokozókkal történő fermentáció során;

- a *Lactobacillus*-ok metabolizmusa során képződő hisztamin mennyiségének meghatározása az almalé fermentációja során.

2. Irodalmi áttekintés

2.1 Probiotikumok

A probiotikum kifejezést 1965-ben használta először Lilly és Stillwell, akik úgy írták le a szót, mint az egyik szervezet által kiválasztott, egy másik szervezet növekedését serkentő anyag. A Nobel-díjas Elie Metchnikoff szerint a bolgár földművesek hosszú életét az erjesztett tejtermékek fogyasztása biztosította (Gupta és Garg, 2009). 1907-ben azt a megállapítást tette, hogy a joghurt erjesztésében részt vevő baktériumok, a *Lactobacillus bulgaricus* és a *Streptococcus thermophilus* kiszorítják a toxintermelő baktériumokat, elnyomják a bélflóra rothasztó jellegű erjesztéseit, ezáltal ezen joghurtok fogyasztása hozzájárul az egészség megőrzéséhez (Del Piano et al., 2006).

Egy tágabb meghatározás szerint a probiotikumok mikrobiális készítmények, vagy mikrobiális sejtek összetevői, amelyek jótékony hatással vannak az egészségre (Marteau et al., 2002).

A FAO és WHO által felkért szakértői testület úgy határozta meg a probiotikumokat, mint „élő mikroorganizmusok, amelyek megfelelő mennyiségben fogyasztva jótékony egészségügyi hatást biztosítanak a gazdaszervezet számára” (Buts, 1999).

A probiotikumok segítik a bélrendszer egészségének javulását, az immunválasz fokozását, a koleszterinszint csökkentését és a rák megelőzését is. Jelentős bizonyítékok támasztják alá, hogy a probiotikumoknak meghatározó szerepük van a hasmenéses betegségek, köztük az antibiotikus kezelésekkel összefüggő hasmenések kezelésében és megelőzésében is, illetve a laktóz-anyagcsere javításában (Kechagia et al., 2013).

Az újszülöttek esetében nagyon gyakori a bélfertőződés, egyes országokban a hasmenés a megbetegedések és a halálozások egyik fő oka (Glass et al., 1991). A necrotizáló enterocolitis egy haspuffadást, epés hányást és véres székletet kiváltó bélbetegség, amely az újszülött csecsemők halálozását okozhatja (Caplan és Jilling, 2000). Felfedezték azonban, hogy a csecsemők bélrendszerében jelenlévő tejsavbaktériumok, például *Lactobacillus*-ok valamint *Bifidobacterium*-ok, csökkentik ezen betegség kialakulásának kockázatát (Lucas és Cole, 1990).

Ahhoz, hogy egy probiotikus törzs kifejthesse jótékony hatását, képes kell legyen a gyomor-bélrendszeri körülmények túlélésére, jól kell tapadnia a gyomor- és bélrendszer

nyálkahártyájához, megakadályozva a kórokozók kolonizációját. Fontos az is, hogy antimikrobiális aktivitást mutasson a kórokozó baktériumokkal szemben (Saarela et al., 2000).

A ma használatos probiotikumok a tejsavbaktériumok közül kerülnek ki, mint például a *Lactobacillus*, a *Bifidobacterium* és a *Streptococcus* (Fioramonti et al., 2003), azonban a *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Saccharomyces* nemzetségbe tartozó fajok is számításban jöhetnek egészségmegőrzésben fontos hatásaik miatt (Blandino et al., 2003).

2.2 Tejsavbaktériumok

A tejsavbaktériumok fontos szerepet játszanak az élelmiszer- és takarmánygyártásban, illetve egyre gyakrabban használják őket az egészség megőrzésében szerepet játszó probiotikumként (Kok et al., 2014). Fontos mikroorganizmusok az emberi szervezetben és a környezetben egyaránt, illetve az élelmiszeriparban is. Egyes nemzetségek a szájban és az orrgarat nyálkahártyáján, mások a bélben, valamint a hüvely nyálkahártyáján telepednek meg (Teuber, 2001).

A tejtermékek előállításában starterkultúraként használatosak (Mohammadi et al., 2012). A húsok, alkoholos italok és zöldségek feldolgozásában is fontos szerepet játszanak (Schillinger és Lücke, 1987).

Bár számos különböző nemzetségből állnak, az erjesztésük végterméke alapján két nagy csoportba sorolhatjuk őket: a heterofermentatív és a homofermentatív tejsavbaktériumok csoportjába. (Salveti et al., 2012).

2.2.1 *Lactobacillus* nemzetség

A *Lactobacillus*-ok nem spóráképző, kataláz negatív, gram-pozitív pálcikák, aerotoleránsak, vagy anaerobok, pH igényüket tekintve pedig általában acidofilek (Salveti et al., 2012). A normál emberi bélflóra fontos résztvevői (Wade és Kononen, 2011). A *Lactobacillus* nemzetséghez számos olyan faj tartozik, amely GRAS-státusszal rendelkezik, ami azt jelenti, hogy biztonságosan használható az élelmiszeriparban, ez a biztonságosság pedig megfelelő tudományos adatokkal alátámasztott (Salveti et al., 2012). Számos faj fontos szerepet játszik a fermentált élelmiszerek előállításában, általában starterkultúraként használják őket. Egyes humán eredetű törzseket probiotikumként, vagy vakcinahordozóként is tudnak hasznosítani (Goh, 2009).

Széles hőmérséklettartományban képesek növekedni, ez 2 °C és 52 °C közötti értéket jelent, de az optimális növekedési hőmérséklet és pH érték számukra 30-40 °C, illetve pH 5,5-6,2 között van (Salveti et al., 2012). Táplálkozási igényük összetett: fejlődésükhöz aminosavakra, peptidekre, vitaminokra, zsírsavakra és szénhidrát-tartalmú szubsztrátokra van szükségük. Éppen ezért nagy számban fordulnak elő élelmiszerekben, a vízben, talajban és az emberi, illetve állati szájüregben, az emésztőrendszer és a nemiszervek normál flórájában (Hammes és Hertel, 2009).

A *Lactobacillus*-ok csoportosítása eredetileg a hőmérséklet optimumuk és a hexózok fermentációja alapján történt (Quinto et al., 2014), később azonban inkább, mint homo- és heterofermentatív csoportokra különítették el őket (Carr et al., 2002). Az elfogadott csoportosítás a Hammes és Vogel (1995), valamint a Hammes és Hertel (2009) által végzett csoportosítás, amely az erjesztett cukrok és a keletkezett termék alapján sorolja a *Lactobacillus*-okat három csoportba: obligát homofermentatív, fakultatív heterofermentatív és obligát heterofermentatív. Az obligát homofermentatív *Lactobacillus*-ok kizárólag hexózokat fermentálnak tejsavvá, az Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) útvonalon keresztül. Pentózokat és glükonátot nem fermentálnak. A fakultatív heterofermentatív fajok a hexózok EMP útvonalon történő fermentációja mellett képesek a pentózokat és a glükonátot a pentóz-foszfát út aldoláz és foszfoketoláz enzimjének segítségével lebontani, amely során ecetsav, etanol és hangyasav keletkezik. Az obligát heterofermentatív *Lactobacillus*-ok a foszfoglükonát útvonalon keresztül metabolizálják a pentózokat és hexózokat, végtermékként pedig tejsav, etanol és szén-dioxid keletkezik (Hammes és Hertel, 2009).

2.2.2 *Lactobacillus*-ok hasznos tevékenysége az élelmiszeriparban

A világban egyre több figyelmet fordítanak az egészségre és az egészséges táplálkozásra, egészséges életmódra. Az emberek rájöttek arra, hogy az egészségük szoros kapcsolatban áll az élelmiszerrel. Ennek következtében az utóbbi években megnőtt a funkcionális élelmiszerek, azaz az olyan élelmiszerek iránti kereslet, amelyek igazoltan egészségmegőrző hatásokkal rendelkeznek (Giraffa et al., 2010). A probiotikumok emberi egészségre gyakorolt hatásait leginkább *in vivo* kísérletekkel bizonyították. (O'May és Macfarlane, 2006). Egy Argentín kutató csoport *Clostridium difficile* kórokozóval fertőzött hörcsögökön végzett vizsgálatot. Ez a fertőzés hasmenéssel járó vastagbélgyulladást okoz. Megállapították, hogy egy kefirből

izolált *Lactobacillus plantarum* törzzsel történő kezelést követően jelentősen csökkentek a rágcslók tünetei (Slattery et al., 2019).

A *Lactobacillus* volt az első mikroorganizmus, amelyet az ember élelmiszerek feldolgozására (Konings, 2000), valamint azok tartósítására használt azáltal, hogy ezen élőlények gátolják az élelmiszerromlást okozó mikroorganizmusok szaporodását, továbbá csökkentik egyes betegségek kialakulásának kockázatát (Adams, 1999). A tartósítást a termelt tejsavval és bakteriocinnel lehet elérni (Anjum et al., 2014). Úgy tartják, a *Lactobacillus* nemzetség nélkülözhetetlen az élelmiszeriparban, a tejipar például aktívan támogatja az élelmiszerekben való felhasználásukat (Bernardeau et al., 2006). Széleskörű élelmiszeripari felhasználásukat az **1. táblázat**ban szemléltetem.

A *Lactobacillus*-okat ma már tudatosan alkalmazzák, starterkultúráként élelmiszerekhez adva számos előnyt nyújtanak: megakadályozzák a bélrendszerre károsan ható mikroorganizmusok, kórokozók szaporodását, jótékony enzimeket szolgáltatnak, elősegítik az immunmodulációt, serkentik az immunrendszert és fokozzák a gyomor-bélrendszer perisztaltikus működését (Hibbing et al., 2010).

1. táblázat: *Lactobacillus*-ok előfordulása különböző élelmiszerekben
(Forrás: Bernardeau és munkatársai, 2006; Leal-Sánchez és munkatársai, 2003 nyomán)

Termék	Faj
Pasztőrözetlen tej	<i>Lb. casei subsp. casei</i> ; <i>Lb. paracasei subsp. paracasei</i> ; <i>Lb. rhamnosus</i> ; <i>Lb. plantarum</i> ; <i>Lb. fermentum</i> ; <i>Lb. brevis</i> ; <i>Lb. buchneri</i> ; <i>Lb. curvatus</i> ; <i>Lb. acidophilus</i> ; <i>Lb. pentosus</i>
Sajtok	<i>Lb. delbrueckii subsp. lactis</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. bulgaricus</i> , <i>Lb. acidophilus</i>
Joghurtok	<i>Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus</i>
Fermentált tej	<i>Lb. kefir</i>
Bor	<i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. brevis</i> ; <i>Lb. collinoides</i> ; <i>Lb. hilgardii</i> ; <i>Lb. paracasei</i> ; <i>Lb. pentosus</i> ; <i>Lb. plantarum</i> ; <i>Lb. mali</i>
Száraz kolbászok	<i>Lb. sakei</i> , <i>Lb. curvatus</i>
Fermentált zöldségek	<i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. pentosus</i> , <i>Lb. fermentum</i> , <i>Lb. casei</i>

2.2.3 *Lactobacillus*-ok antimikrobás anyagcseretermékei

A mikroorganizmusok különböző kölcsönhatásban vannak egymással, ami kihat saját maguk és a populációban lévő többi mikroorganizmus szaporodására is. Egyes mikroorganizmusok szimbiózisban élnek egymással, ami azt jelenti, hogy az egyik mikroorganizmus olyan kémiai vegyületet szintetizál, ami a másik mikroorganizmus számára elsődleges nyersanyagként szolgál. A mikroorganizmusok közötti kölcsönhatás másik példája, amikor az együttélés akadályozza legalább az egyik faj növekedését (Prosser et al., 2007). Ilyen kölcsönhatások a predáció, a parazitizmus, a gátlás és a versengés (Ibrahim et al., 2021).

Számos mikroorganizmus – köztük a *Lactobacillus* is -képes olyan savakat, alkoholokat, diacetátokat, illetve különböző antibiotikumokat, bakteriocineket termelni fermentációjuk során, amelyek gátló, azaz antimikrobiális hatásúak más mikrobára nézve, emiatt rendkívül hatékony tartósítószernek tartják őket (Homayouni Rad et al., 2023). Érdekes megjegyezni, hogy ezeknek az antimikrobiális anyagoknak nincs semmilyen negatív hatása az élelmiszerek érzékszervi tulajdonságaira, alkalmazásuk során nem változik sem fizikai, sem kémiai tulajdonsága az ételnek (Ibrahim et al., 2021).

A *Lactobacillus*-ok által termelt antimikrobiális anyagokat három fő csoportba sorolhatjuk: 1.) peptid- vagy fehérjetartalmú bakteriocinek, 2.) szerves savak (vajsav, ecetsav, tejsav), 3.) egyéb kismolekulák, például diacetil, hidrogén-peroxid, acetaldehid (Sieuwerts et al., 2018).

2.2.3.1 Szerves savak

A *Lactobacillus*-ok anyagcseréjük során különböző szerves savakat, főként tejsavat és ecetsavat állítanak elő melléktermékként (Zalán et al., 2010). A szerves savak jelenléte növeli a termék eltarthatóságát. Ezek a savak csökkentik a közeg pH-ját, így teremtve kedvezőtlen környezetet más mikroorganizmusok számára (Shah és Dave, 2002). A patogén és romlást okozó mikroorganizmusok gátlása is e savak gyors képződésének köszönhető (Ammor és Mayo, 2007).

A tejsav számos élelmiszerben jelen van, mind természetes formában, mind pedig a baktériumok erjesztési melléktermékeként fermentált termékekben, mint például a savanyúkáposztában, más savanyított zöldségekben, joghurtokban, kovászos kenyerekben. Savanyítóként, ízesítőként és romlást gátló anyagként alkalmazzák az élelmiszeriparban (Reis et al., 2012). A tejsav gátlási mechanizmusa a nem disszociált tejsavnak a citoplazma

membránjában való oldhatóságával és a disszociált laktát oldhatatlanságával függ össze, ami a citoplazma elsavasodását okozza. A sejt ugyan megpróbálja helyreállítani a pH-ját, de mivel ez egy energiaigényes folyamat, így a szaporodástól, életműködéstől vonja el a szükséges energiát (Wee et al., 2006).

Az ecetsavat különböző élelmiszerekben használják a Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumok, valamint élesztők és gombák növekedésének gátlására, életképességeik csökkentésére. Általában 0,2 %-nál már bakteriosztatikus hatású, míg baktériumölő hatása 0,3 % felett érvényesül (Reis et al., 2012).

2.2.3.2 Hidrogén-peroxid

A legtöbb *Lactobacillus* faj képes laktát oxidálásával hidrogén-peroxidot képezni (Reis et al., 2012). Oxigén jelenlétében, a flavoprotein-oxidáz, illetve a nikotinamid-adenin-dinukleotid-peroxidáz aktivitásuk által szintetizálnak hidrogén-peroxidot. Antimikrobiális hatása egyrészt a szulfhidrilcsoportok oxidációjából eredhet, amely számos enzim denaturálódásához vezet, másrészt a membránlipidek oxidációjából, ami növeli annak átjárhatóságát, bejutva a sejtbe pedig a fehérjékre fejt ki oxidációs hatást. A hidrogén-peroxid prekursor lehet a szuperoxid-, és a hidroxil szabad gyökök képződéséhez, amelyek roncsolják a DNS-t (Ammor et al., 2006).

2.2.3.3 Szén-dioxid

Főként heterofermentatív *Lactobacillus*-ok termelnek szén-dioxidot, antimikrobiális hatásmechanizmusa ellenben ismeretlen. Szerepet játszhat azonban az anaerob környezet kialakításában. Ez az oxigénmentes környezet pedig gátolja az enzimes dekarboxilációt, csökkenti a sejten belüli pH-t, a szén-dioxid felhalmozódása pedig zavart okoz a membrán permeabilitásában. Különösen a Gram-negatív pszichotróf baktériumok növekedését gátolja (Ammor et al., 2006).

2.2.3.4 Bakteriocinek

A bakteriocinek riboszómálisan szintetizált antimikrobiális peptidek, vagy komplex fehérjék (Ahmad et al., 2017). Az első bakteriocint *Escherichia coli* tenyészetéből vonták ki és kolicinnek nevezték. A bakteriocinek főként kationos, amfifil, membránpermeabilizáló peptidek, amelyeket vizes oldatban strukturálatlanok, de hajlamosak α -hélix szerkezet kialakítására (Reis et al., 2012). Sokáig bizonytalanság övezte a különböző mikrobákkal előállított termékeket, így a bakteriocinek felhasználását is az élelmiszer tartósítására. A kémiai

tartósítószerekkel ellentétben azonban a bakteriocinekkal kezelt élelmiszerek teljesen biztonságosnak mondhatók (Banerjee et al., 2022).

Antibakteriális hatásukat többféleképpen fejtik ki: gátolják az oxigén felvételét az elektrontranszport-láncban, aminek hatására a sejt nem képes a molekulák – DNS-, RNS-, fehérje - szintéziséhez szükséges energia termelésére. Gátolja a különböző enzimaktivitásokat is, továbbá pórusokat képez a sejt citoplazmahártyáján, növelve a membrán átjárhatóságát, így, ezen pórusokon keresztül a kisebb molekulák kiáramlanak a sejtéből. A pozitív töltésű bakteriocin molekula és a sejt citoplazmamembránjában lévő negatív töltésű foszfolipidek közötti elektrosztatikus kölcsönhatások segítik a molekula kapcsolódását a sejthez (Banerjee et al., 2022).

A bakteriocinek négy osztályba sorolhatók, kémiai szerkezetük, molekulatömegük és termikus stabilitásuk alapján (Reis et al., 2012).

Az I. osztály a lantionint tartalmazó lantibiotikumok, amelyek kis molekulatömegű peptidek (< 5 kDa). Lantionin mellett metilantionint is tartalmaz. Hőstabilak, a Gram-pozitív baktériumok sejtfalának vázában fejtik ki hatásukat. Az Ia alosztályú bakteriocinek pozitív töltésű, megnyúlt peptidek, melyek pórust képezve pusztítják el a baktériumokat. A nizin ebbe az alcsoportba tartozik. Az Ib alosztályba tartozó bakteriocinek gömb alakúak, negatív töltésűek, különböző katalitikus enzimek működését gátolják. Ide tartozik a citolizin, szalivaricin (Ahmad et al., 2017; Reis et al., 2012).

A II. osztály a lantionint nem tartalmazó, hőstabil, kis molekulatömegű (< 10 kDa) peptidek csoportja. IIa alosztály tagjai a leukocin A, az acidocin A és a pedicoin PA-1. A IIb alosztályú bakteriocinek két különböző peptidből állnak. Ebbe a csoportba tartozik például a laktokokcin G és a plantarinok. A IIc osztályba tartozó bakteriocinek szintén kisméretű, hőstabil peptidek. További két csoportra oszthatók, a tiolbiotikumokra és a cisztibiotikumokra. Az osztály tagjai például a laktococcin A és az acidocin B (Ahmad et al., 2017; Reis et al., 2012).

A III. osztályba tartozó bakteriocinek nagy (> 30 kDa) peptidek, ilyen például a zoocin A, a lizosztafin, vagy a helveticin J. Az ide tartozó bakteriocinek hőre érzékenyek. Enzimatisz utón lízisre készítetik a baktériumok sejtfalát (Ahmad et al., 2017).

Az utolsó, IV. osztályba tartozó hőstabil bakteriocinek fehérjék, lipidek és szénhidrátok keverékei. Ebbe az osztályba tartozik a plantaricin S és a leuconocin S (Reis et al., 2012).

2.3 *Lactobacillus*-ok biogén amin termelése

A biogén aminok nitrogéntartalmú, szerves vegyületek, amelyek jelen vannak számos erjesztett élelmiszerben, mint például a sajtokban, kolbászokban, halakban, borokban, erjesztett zöldségekben (Doeun et al., 2017). Az erjesztés, vagy az élelmiszerek tárolása során a tejsavbaktériumok által végzett aminosav dekarboxilációnak köszönhető a felhalmozódásuk (Pessione et al., 2005). Kis mennyiségben a bélben lévő amino-oxidázok képesek lebontani, hatástalanítani (Doeun et al., 2017), nagyobb dózist tartalmazó élelmiszert fogyasztva azonban az emberre toxikus hatást gyakorolhatnak, a hatás erőssége pedig az adott személy érzékenységétől függ. A tünetek között szerepel a fejfájás, hányás, hasmenés, heves szívverés (Barbieri et al., 2019).

Az aminok két csoportra, endogén és exogén aminokra oszthatók. Az endogén aminok csoportjába tartoznak a szövetek által termelt neurotranszmitterek. Ide sorolható a dopamin, az adrenalin, a noradrenalin, a szerotonin, a melatonin és a hisztamin. Leginkább húsok, halak és gyümölcsök tartalmazzák ezeket az anyagokat és fontos szerepük van a szervezetben. Az exogén aminok a fermentatív mikroflóra dekarboxiláz aktivitásának eredményeként jönnek létre. Nevüket arról az aminosavról kapták, amelyből származnak. Nyers és feldolgozott termékekben egyaránt jelen vannak (Wójcik et al., 2021).

Az emberi egészséget leginkább veszélyeztető aminok közé tartozik a hisztamin (Pessione et al., 2005).

A hisztamin az L-hisztidinből L-hisztidindekarboxiláz által szintetizált természetes amin (Maintz és Novak, 2007; Shulpekova et al., 2021). 1910-ben fedezték fel, majd később, 1932-ben írták le az anafilaxiás reakciók közvetítőjeként. Hízósejtek, bazofil granulociták intracellulárisan tartalmazzák nagy mennyiségben hisztamint, amelyek kiszabadulva a célsejtek 4 hisztaminreceptorához kapcsolódva fejtik ki hatásukat (Maintz és Novak, 2007).

A szervezetbe táplálék útján kerül be. Egyes élelmiszerek, húsok, halak, természetesen is tartalmazzák ezt a biogén amint, míg a fermentált élelmiszerekben a mikrobák tevékenysége miatt fordulhatnak elő nagyobb mennyiségben. Az emberi szervezetben a hisztamin két módon metabolizálódhat: oxidatív deaminálással, diamin-oxidáz (DAO) segítségével, vagy metilálással, a hisztamin-N-metiltranszferáz által (Shulpekova et al., 2021). Abban az esetben, ha nagyobb mennyiségű hisztamin kerül be a szervezetbe, ezek a lebontó folyamatok

gátlódnak, a felhalmozódott hisztamin a simaizomsejtek összehúzódását okozza, ami hányással, hasmenéssel jár, továbbá tágítja az ereket, befolyásolva ezzel a vérnyomást (Maintz és Novak, 2007).

Egészséges emberekben a táplálékkal bevitt hisztamin a bélrendszerben jelenlévő diamin-oxidázok közreműködésével lebomlik. Egyes emberek szervezete azonban genetikai oknál fogva képtelen metabolizálni ezt az amint, a diamin-oxidáz elégtelen repressziója miatt. Bizonyos gyógyszerek, például a verapamil, az acetil-cisztein és a metamizol csökkenthetik ezen enzim aktivitását, ami szintén akadályozza a hisztamin lebontását, így a szervezetben felhalmozódott hisztamin intoleranciához vezet (Shulpekova et al., 2021). A szerzett DAO-hiány gyulladásoos bélbetegségek következménye is lehet (Comas-Basté et al., 2020).

A hisztamin intolerancia leggyakoribb tünete a puffadás, hasi fájdalom, hasmenés, de gyakori a szív- és érrendszeri zavar - fejfájás, szédülés, heves szívverés, vagy allergiás tünetek – orrfolyás, orrdugulás, nehézlégzés is (Schnedl et al., 2019). Jelenleg a tünetek elkerülésére a legjobb megoldást a hisztaminszegény étrend követése biztosítja. Az étrend szigorú betartásán felül ajánlott antihisztamin-kezelés, illetve, ha igazolt az enzimdefektus, akkor a DAO enzim pótlása is (Martin et al., 2016). A Food and Drug Administration a hisztamin fogyasztását, megfigyelhető káros hatás nélkül 50 mg/kg- ban határozta meg (Visciano és Schirone, 2022). Mivel a tejsavbaktériumok a fő termelői ennek a biogén aminnak, így kiemelten fontos hisztamintermelő képességük vizsgálata.

2.4 Növényi alapú probiotikus italok

A korábban is említett probiotikumok nagyon fontos szerepet játszanak az emberi egészség megőrzésében, betegségek elkerülésében és egyre nagyobb támogatást nyernek azok az élelmiszerek, amelyek hozzáadott jótékony hatású mikroorganizmusokat tartalmaznak (Vasudha és Mishra, 2013). Az emberek próbálnak tudatosabban étkezni, odafigyelnek az immunrendszer egészségére. Napjainkban a kereskedelmi forgalomban kapható probiotikus élelmiszerek nagy része azonban tej alapú, tejterméket pedig nagyon sokan nem fogyasztanak, vagy nem fogyaszthatnak. A laktóz intolerancia, a tej koleszterin tartalma és az allergén tejfehérjék korlátozzák a lakosság jelentős részét a tejtermékek fogyasztásában (Panghal et al., 2018). Azok pedig, akik az egészséges életmódra térnek át, ma már inkább a növényi alapú élelmiszereket részesítik előnyben (Luckow és Delahunty, 2004). Az említett

okok miatt szükségessé vált olyan alternatív nyersanyagok keresése, amelyek alkalmasak a probiotikumok bevitele számára. Potenciális szubsztrátumok a gyümölcsök, a zöldségek, a gabonafélék és a hüvelyesek lehetnek (Vasudha és Mishra, 2013). Fontos, hogy ezek a tejtermék alternatívák rendelkezzenek egészségmegőrző hatással, megfelelő mennyiségű tápanyagokat tartalmazzanak, legyenek fehérjében, rostokban, vitaminokban, ásványi anyagokban, antioxidánsokban gazdagok, viszont koleszterintartalmuk legyen alacsony (Deng et al., 2015; Panghal et al., 2018). A laktózérzékenységekben szenvedők számára a tejmentes probiotikus élelmiszerek terápiás kezelésként hatnak (Deng et al., 2015).

Jelenleg körülbelül 20 tejsavbaktériumtörzset alkalmaznak növényi alapú fermentációra. A tejsavbaktériumok a fermentáció során a nyersanyagokat jól felszívódó formára bontják, ezáltal a mérgezőanyagok is lebontódnak (Yang et al., 2024). A növényi alapú tejsavas fermentációt hasonló eljárással végzik, mint a fermentált tejtermékét (Erem és Kilic-Akyilmaz, 2024). Az erjesztéshez használt alapanyagokat gyakran cefrézik, őrlik, áztatják, annak érdekében, hogy az alkalmazott mikroorganizmusok hozzáférjenek az erjesztendő vegyületekhez. A legnagyobb mennyiségben jelenlévő erjeszthető szénhidrát a keményítő. Az előbb említett előfeldolgozási műveletek segítik az α -amiláz, maltáz és glükóamiláz enzimek felszabadulását, így lehetővé válik a keményítő hidrolízise glükózzá (Samtiya et al., 2021).

A legnagyobb érdeklődést a gyümölcsle alapú, probiotikus összetevőket tartalmazó funkcionális italok fejlesztése iránt mutatják (Vasudha és Mishra, 2013). A különböző gyümölcsök és gyümölcslevek számos előnnyel rendelkeznek: tartalmazznak vitaminokat, ásványi anyagokat, élelmi rostokat, antioxidánsokat, így ideális szubsztrát mind a probiotikumok, mind a fogyasztók számára. Mindemellett frissítő hatásúak, illetve jó ízzel rendelkeznek és nem tartalmazznak semmilyen tej allergént, laktózt vagy koleszterint (Panghal et al., 2018).

Egy új, tejmentes probiotikus termék fejlesztése során szem előtt kell tartani a fogyasztók elvárásait, miszerint a termék egyszerre legyen élvezhető és egészséges. A termékeknek megfelelő fizikai-kémiai és érzékszervi jellemzőkkel, kémiai stabilitással, hosszabb eltarthatósági idővel és elfogadható árral kell rendelkezniük (Granato et al., 2010). A fermentált élelmiszerekre jellemző, hogy megváltozhat a termék íze, aromája, textúrája, amit a különböző anyagcseretermékek okoznak (Marrero et al., 2019). Luckow és munkatársai (2006) trópusi gyümölcsök hozzáadását javasolta 10 v/v%-ot meg nem haladó arányban, hogy

a probiotikumok által okozott mellékízt elfedjék. Azt a módszert, amely során kellemes aromájú összetevőket, pl gyümölcsleveket adunk a termékhez, maszkolásnak nevezzük. Ezzel a probiotikumok által termelt anyagok esetleges kellemetlen íze, aromája módosítható (Luckow et al., 2006).

2.5. Az alma és az almalé általános jellemzői

2.5.1. Beltartalmi jellemzők

Az alma a világ egyik legnépszerűbb gyümölcse. Az emberi táplálkozás fontos részét képi, mivel ásványi anyagokban, élelmi rostokban, aszkorbinsavban és fenolokban gazdag. A cukrok, szerves savak és a fenolos vegyületek adják az alma édes, keserű, fanyar ízét. Az almalé szerves savtartalma hozzájárul a gyümölcslé stabilitásához és eltarthatóságához (Kumar et al., 2018).

Az alma és almalé tápanyagtartalma a **2. táblázat**ban látható.

2. táblázat: Az alma és almalé átlagos tápanyagtartalma 100 g tömegre nézve
(Forrás: [http1](#), [http2](#))

Tápanyag	Alma	Almalé
Víz (g)	94,3	87,16
Energia (kcal/kJ)	23	47
Fehérje (g)	0,4	0,29
Zsír (g)	0,3	0,33
Szénhidrát (g)	4,8	12
Rost (g)	0,3	1,3
Kalcium (mg)	10	5
Magnézium (mg)	12	3
Foszfor (mg)	9	8
Kálium (mg)	97	76
Nátrium (mg)	3	3
C-vitamin (mg)	1600	0,4

A táblázatot megfigyelve látható, hogy az almalé energia- (47 kcal) és szénhidráttartalma (12 g) magasabb, mint az almáé (23 kcal és 4,8 g). Ennek oka, hogy az almalé gyümölcscukron kívül sok esetben hozzáadott cukrot is tartalmaz, tehát koncentráltabb formában van jelen ez a szénhidrát. Ami a C-vitamint és az egyéb ásványi anyagokat illeti, az alma tápértéke sokkal

kiegyensúlyozottabb, a különböző tápanyagok nagyobb mennyiségben vannak jelen, mint az almalében, ahol ezek az értékek csökkennek a feldolgozási műveletek során.

2.5.2. Egészségügyi hatása

Az alma számos olyan összetevőt tartalmaz, amelyekről kimutatták, hogy jótékony hatással rendelkeznek. Ilyenek a fitokemikáliák, a C-vitamin, az élelmi rostok és a pektin (Vallée Marcotte et al., 2022).

A fitokemikáliák egészségügyi hatása az antioxidáns aktivitásuknak köszönhető. Az antioxidánsok elektronokat adnak a szabad gyököknek, megakadályozva a sejtkárosodást. Ilyen molekulák a karotinoidok, a szelén és a polifenolok. A sejtkárosodás mellett a cukorbetegség, rák, magas vérnyomás, asztma, szív- és érrendszeri betegségek megelőzésében is szerepet játszanak (Vallée Marcotte et al., 2022).

A C-vitamin erős antioxidáns, számos betegség megelőzését segíti. Növeli a nitrogén-oxid felszabadulását, ezzel segíti az értágulatot (Vallée Marcotte et al., 2022).

A rostok nem emészthető poliszacharidok, amelyek a gyomor-bélrendszerbe jutva fejtik ki egészségügyi hatásaikat (Hervik és Svihus, 2019). A rostok hozzájárulnak a cukorbetegség, elhízás, szív- és érrendszeri betegségek, bélrendszeri rendellenességek és a rákos megbetegedések megelőzéséhez. Az oldható rostokat a vastagbélben a baktériumok fermentálják, így rövidláncú zsírsavak keletkeznek, amelyek felszívódva segítenek többek közt a máj koleszterinszintézisének csökkentésében (Anderson et al., 2009).

A pektin viszkozitásának köszönhetően képes fémekhez kötődni, elősegítve azok kiürülését a szervezetből, illetve csökkenteni tudja a toxikus fémek (higany, ólom, arzén, kadmium) felszívódását (Lara-Espinoza et al., 2018). Szerepet játszik számos rákos megbetegedés megelőzésében is (Ribeiro et al., 2022).

2.5.3. Fermentált almalé

Chen és munkatársai (2019) 4 tejsavbaktérium (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei* és *Lactobacillus plantarum*) szaporodását és hatását figyelték meg erjesztett almalében. A kereskedelembe kapható, megvásárolt almalé kezdeti pH-ja 3,85 volt. Mivel ez a savas környezet gátolja a tejsavbaktériumok növekedését, a fermentáció előtt nátrium-karbonát segítségével beállították a gyümölcsle pH-ját 6-ra. A sterilizést

követően 7,0 log TKE/ml koncentrációban beoltották a mikroorganizmusokat, majd 37 °C-on inkubálták őket. A fermentációt pH 3,85-ös értéknél tekintették befejezettnek. Az erjesztés végén a mintákat 4 hétig 4°C-on, hűtőszekrényben tárolták. A mikrobiális életképességet és a pH-t a fermentáció alatt 10 óránként határozták meg, majd a tárolás során hetente. Kontrollként az erjesztetlen almalé szolgált. A kutatást összegezve, elmondható, hogy mind a négy *Lactobacillus* törzs jól szaporodott. A *L. plantarum* és a *L. acidophilus* sejtszáma a fermentáció végére valamennyivel több, mint 7 log TKE/ml, a *L. casei* és a *L. rhamnosus* ennél nagyobb, 8,44 és 8,30 log TKE/ml értéket ért el. A *L. casei* és a *L. rhamnosus* esetén 65 óra alatt csökkent le a pH 3,85-ös értékre, míg a *L. plantarum* és a *L. acidophilus* törzseknek 80 órára volt szüksége. A hűtött tárolási időszak végén számuk 6 log TKE/ml felett maradt.

3. Anyagok és módszerek

3.1 Felhasznált mikroorganizmusok

A **3. táblázat**ban található *Lactobacillus* törzseket használtam fel a kísérletekhez.

3. táblázat: Felhasznált *Lactobacillus* törzsek

Törzs neve	Törzs száma	Forgalmazó
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	150	Christian Hansen
<i>Lactobacillus plantarum</i>	299v	
<i>Lactobacillus brevis</i>	HA-112	Lallemand Health Solutions

A **4. táblázat** a kísérlethez használt patogén mikroorganizmusok apatogén törzseit tartalmazza, melyek az Élelmiszer-mikrobiológia, -higiénia és -biztonság Tanszék törzsgyűjteményéből származtak.

4. táblázat: Felhasznált patogén mikroorganizmusok

Törzs neve
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739
<i>Escherichia coli</i> O157 H:7
<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Listeria innocua</i>

3.2. Felhasznált tápközegek

3.2.1. Laboratóriumi tápközegek

- **MRS (de Man Rogosa Sharpe) tápleves**

A *Lactobacillus* törzsek felszaporításához és fenntartásához MRS táplevest készítettem. A komponenseket és szükséges mennyiségüket az **5. táblázat**nak megfelelően táramérlegen

mértem össze, majd mágneses keverő segítségével homogenizáltam. A táplevest ezután 15 percig, 121 °C-on sterilizáltam autoklávban.

5. táblázat: MRS tápleves összetevői

Összetevő	Mennyiség
Dextróz	20 g
Proteóz-pepton	10 g
Húskivonat	8 g
Élesztőkivonat	4 g
Nátrium-acetát	5 g
Triammónium-citrát	2 g
Dikálium-hidrogén-foszfát	2 g
Tween 80	1 g
Magnézium-szulfát	0,2 g
Mangán-szulfát	0,05 g
Desztillált víz	1000 ml

- **MRS tápagar**

Összetétele megegyezik az MRS táplevessel (**5. táblázat**), kiegészítve 15 g agar-aggarral.

- **TSB (Tryptic Soy Broth) tápleves**

Az apatogén törzsek fenntartásához TSB táplevest készítettem. A komponenseket és szükséges mennyiségüket a **6. táblázat**nak megfelelően táramérleg segítségével mértem össze, majd mágneses keverő segítségével homogenizáltam. A táplevest ezután 15 percig, 121 °C-on sterilizáltam autoklávban.

6. táblázat: TSB tápleves összetevői

Összetevő	Mennyiség
Pankreász enzimekkel emésztett kazein	17 g
Papainnal emésztett szójaliszt	3 g
Nátrium-klorid	5 g
Dextróz	2,5 g
Dikálium-hidrogén-foszfát	2,5 g
Desztillált víz	1000 ml

- **TSB tápagar**

Összetétele megegyezik az TSB táplevessel (**6.táblázat**), kiegészítve 15 g agar-aggal.

- **Fiziológiás sóoldat**

A sejtszámláláshoz szükséges tizedelő hígítás elvégzéséhez fiziológiás sóoldatot készítettem. 1000 ml desztillált vízben 8,5 g NaCl-ot oldottam fel, majd 4,5 ml-ként pipettával szétosztottam kémcsövekbe. Ezt követően az oldatokat 15 percig autoklávban steriliztem 121 °C-on.

3.2.2. Gyümölcs alapú tápközeg

Kísérleteim során kereskedelmi forgalomban elérhető szűretlen, 100%-os almalevet használtam, ami 1 literes kiszerelésben került beszerzésre.

3.3. Alkalmazott módszerek

3.3.1. Mikroorganizmusok szaporítása

3.3.1.1. *Lactobacillus* törzsek szaporítása

A *Lactobacillus* törzseket MRS táplevesben 37°C-on szaporítottam fel. Az elkészült folyadéktenyészetet hűtőszekrényben tároltam felhasználásig. A kísérleteket megelőzően steril fülke alatt átoltást végeztem a tárolt törzsekből 10-10 ml MRS táplevesbe, majd 37°C-on 24 óráig inkubáltam őket.

3.3.1.2. Kórokozó törzsek szaporítása

A kórokozó törzseket a folyadéktenyészetként hűtőszekrényben tárolt sejt kultúrából a kísérletet megelőzően steril fülke alatt átoltottam 10-10 ml TSB táplevest tartalmazó kémcsőbe, majd 37°C-on 24 óráig inkubáltam őket.

3.3.2. Almalé fermentáció

A kísérletek során a fermentációt megelőzően az almalé pH-ját 6 körüli értékre állítottam be 4N NaOH oldattal, hogy kedvezőbb legyen a *Lactobacillus* törzsek optimális növekedéséhez. Ezt követően steril lombikokba osztottam az almalevet a kísérleti beállításoknak megfelelően, majd az **7. táblázat** alapján 5v/v%-kal oltottam be a *Lactobacillus* törzseket az almalevekbe. A beoltást követően a lombikokat 24 órára 37 °C-os termosztátba helyeztem. Meghatározott időnként mintát vettem és megmértem a pH változásokat, titrálható savtartalmat, illetve az élősejtszámot is meghatároztam.

7. táblázat: *Lactobacillus* törzsek vegyes kultúrájának aránya almalében
(Forrás: György, 2022 nyomán)

Beállítás sorszáma	Törzsek	Arány
1.	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 150 + <i>Lactobacillus brevis</i> HA-112	10:1
2.	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 150 + <i>Lactobacillus brevis</i> HA-112	1:1
3.	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 150 + <i>Lactobacillus brevis</i> HA-112 + <i>Lactobacillus plantarum</i> 299v	1:1:1
4.	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 150 + <i>Lactobacillus brevis</i> HA-112 + <i>Lactobacillus plantarum</i> 299v	10:1:10

3.3.3. pH mérés

A minták pH értékeit a Mettler Toledo SevenMulti™ pH mérő segítségével mértem. A műszert az előírásoknak megfelelően kalibráltam az erre alkalmas pufferoldatokkal a mérést megelőzően.

3.3.4. Sejtszám meghatározás

A sejtszám meghatározásához 0,5 ml mintát vettem ki és hozzáadtam az előzetesen elkészített, steril, 4,5 ml fiziológiás sóoldathoz. Alapos homogenizálás után tizedelő hígítást, majd lemezöntést végeztem MRS tápagarral. A megfelelő hígítási tagokból két párhuzamos vizsgálat történt. A lemezeket hagytam megdermedni, majd 48 óráig inkubáltam 37 °C-on. Inkubálás után megszámloltam a jól látható telepeket, ebből meghatároztam a mintában lévő sejtszámot, amit TKE/ml-ben adtam meg.

3.3.5. Fermentált almalé liofilizálása

A mintákat steril centrifugacsőbe osztottam szét, majd fagyasztást követően behelyeztem őket egy Christ Alpha típusú liofilizáló berendezésbe. Ezzel a folyamattal koncentráltam a tejsavbaktériumok által termelt antimikrobás anyagokat. A folyamat körülményei:

- Vákuum nyomása: 0,25 mbar.
- Minta polc hőmérséklete: 24 °C.
- Fagyasztás hőmérséklete: -84 °C.

3.3.6. Antimikrobiális hatás vizsgálata agar-lyuk diffúziós módszerrel

Az agar-lyuk diffúziós módszerhez Petri-csészékbe 200 µl-t pipettáztam a 24 óra alatt felszaporított kórokozókból, TSB agarral leöntöttem, majd körkörös mozdulatokkal homogenizáltam, s hagytam dermedni. Miután megszilárdult, 8 mm átmérőjű lyukakat fúrtam a táptalajba, a lyukakat a Petri-csészén feliratoztam. A liofilizált mintákat a kísérleti beállításhoz megfelelő mennyiségű desztillált vízben visszaszuszpendáltam, Vortex segítségével homogenizáltam, majd a mintákból a megfelelő lyukba 150 µl-t mértem. A Petri-csészéket 1 órára hűtőszekrénybe helyeztem, majd 24 óráig inkubáltam 37 °C-on, végül megvizsgáltam a lyukak körül keletkezett feltisztulási zónákat és lemértem azok nagyságát.

3.3.7. Kórokozók előlése

50 ml TSB táplevest tartalmazó lombikba 1 ml kórokozót oltottam, amit 24 óra alatt szaporítottam fel. A tenyészeteket ezután centrifugacsőbe öntöttem és 1 órán át 55 °C-on tartottam, ezzel előlve az alkalmazott kórokozókat. Ezután a csövek tartalmát 10.000 rpm fordulatszámon 10 percig centrifugáltam laboratóriumi centrifugán. A sejtmentes felülúszót

leöntöttem, majd a centrifugacső aljára kiülepedett, elölt kórokozó sejteket 80 ml almalébe szuszpendáltam.

3.3.8. Hisztamin termelés vizsgálata

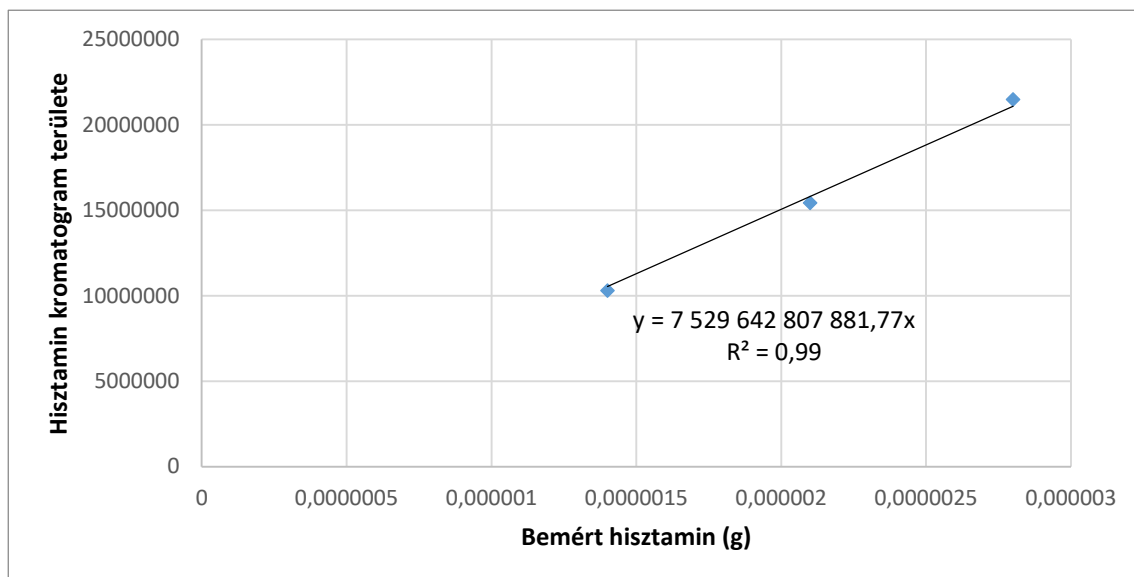
A biogén amin meghatározáshoz származékképzés szükséges. A különböző időpontokban kivett mintákat 10.000 rpm fordulatszámon, 10 percig centrifugáltam. A származékképzést a következőképpen végeztem el:

- A felülúszóból 3 ml mintát vettem ki, melyhez 900 µl NaHCO₃ oldatot adtam, majd 1M KOH oldattal pH 11-11,5 értékre állítottam.
- 150 ml acetonban oldottam 0,75 g danzil-kloridot.
- A mintákat ezután 12 ml 0,5%-os danzil klorid oldattal kezeltem.
- A kezelt mintát 45 percig 40°C-on rázattam.
- A rázatás után 1,2 ml, 25%-os ammónia-oldatot adtam.
- 30 percig sötétben, szobahőmérsékleten inkubáltam a mintát.
- 30 ml-re kiegészítettem acetonitrillel.
- Végül 0,45 µm pórusátmérőjű szűrővel átszűrtem egy HPLC méréshez alkalmas mintatartóba.

A mintákat a származékképzés után behelyeztem a HPLC berendezésbe. A méréshez alkalmazott oszlop Supercosil C18 volt, a detektor pedig Waters PDA detektor (UV) (254nm). Az eluens acetonitril és víz elegye volt, 40:60 arányban, amit a mérés előtt számítógépen állítottam be. Beállítottam továbbá az adagolni kívánt mintamennyiséget (20 µl) és az áramlási sebességet, ami 0,5 ml/perc volt. A detektor és az oszlop hőmérséklete szobahőmérsékletű volt. Az elválasztás 35 percig tartott. A mérés során három különböző hisztamin koncentrációt alkalmaztam, majd a minták hisztamin koncentrációját az általam készített kalibrációs egyenes segítségével állapítottam meg, ami az **1. ábrán** látható.

1. ábra: A hisztamin kromatogram területe a bemért hisztamin mennyiségének függvényében

(Forrás: saját munka)



3.3.9. Fermentált almalé titrálható savtartalmának meghatározása

A fermentált almalé minta titrálható savtartalmát 0,1 normális NaOH oldattal történő titrálással határoztam meg. NaOH oldattal feltöltöttem a bürettát, a pH értéket pedig pH mérővel mértem. A titrálást addig végeztem, amíg a minták el nem érték a 8,2 pH értéket. Ez az az érték, ahol az összes szabad sav (jelen esetben a tejsav) neutralizálódik a hozzáadott NaOH által. A megfelelő pH elérésekor lejegyeztem a NaOH oldat fogyását a bürettáról és kiszámoltam a savtartalmat tejsavra vonatkoztatva g/100 ml mértékegységben az alábbi képlet alapján:

$$\text{titrálható sav} = \frac{\text{NaOH koncentrációja (M)} \cdot \text{NaOH fogyás (ml)} \cdot \text{NaOH faktorszám} \cdot \text{egyenérték} \cdot 100}{\text{bemért mennyiség (ml)}}$$

4. Eredmények és értékelésük

A kísérleteim során fermentált almalevek antimikrobás hatását vizsgáltam kórokozó mikroorganizmusok apatogén törzsei ellen. A fermentációhoz alkalmazott probiotikus tejsavbaktériumokra és azok arányaira György (2022) kutatómunkája adta az ötletet, aki vegyes kultúrákat állított össze az antimikrobás hatás fokozása érdekében. Ismert a tejsavbaktériumok bakteriocin termelő képessége, melyet rokon fajok ellen fejtenek ki. A kutatómunkája során bizonyította, hogy a *Lactobacillus acidophilus* 150 törzs antimikrobás anyag termelésének mértéke fokozható az általa termelt antimikrobás anyagra érzékeny törzzsel való együtt szaporítása során MRS tápközegben. Kutatómunkám során tejsavbaktériumokkal fermentált almalé antimikrobás hatását vizsgáltam különböző apatogén törzsekkel szemben. Céлом volt továbbá az antimikrobás hatású komponensek termelését időben megfigyelni, valamint az antimikrobás hatás esetleges fokozásának elérése előtt kórokozókkal történő fermentáció során. A tejsavbaktériumok hisztamintermelését is megfigyeltem.

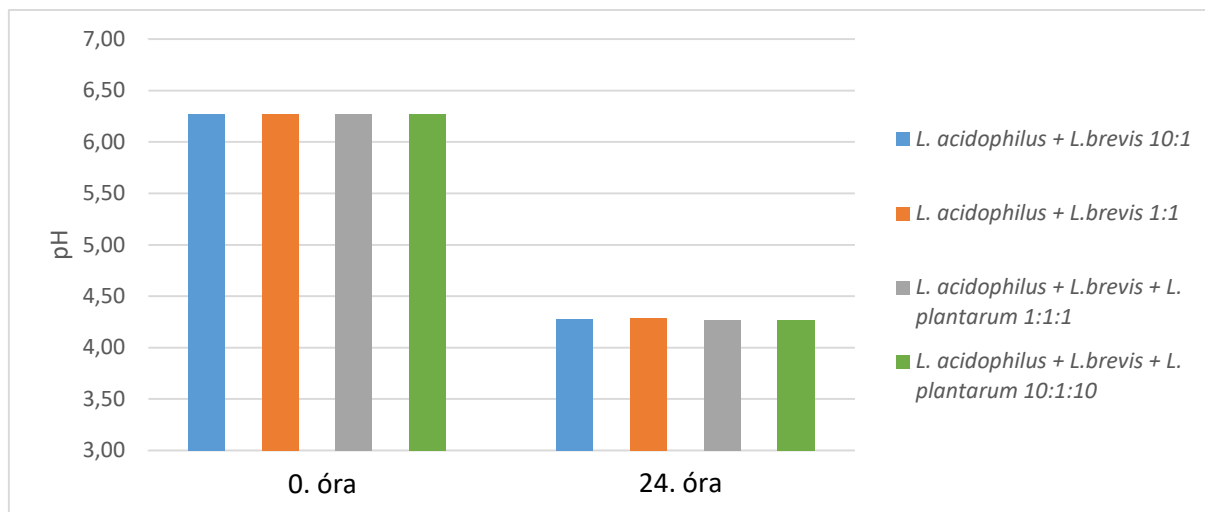
4.1. Almalé fermentáció *Lactobacillus* törzsekkel

Kutatómunkám kezdetén almalé fermentációt valósítottam meg, melyhez a 3.3.2. pontban található **7. táblázat** szerint négyféle kísérleti beállítást készítettem a *Lactobacillus acidophilus* 150, a *Lactobacillus brevis* HA-112 és a *Lactobacillus plantarum* 299v törzsek különböző arányú beoltásával az almalébe. A fermentáció során követtem a pH, a titrálható savtartalom, és az antimikrobás aktivitás alakulását, valamint egyes mintáknál a keletkező hisztamin mennyiségét.

4.1.1. pH értékek változása

A fermentáció 24. órájában mintát vettem, melynek megmértem a pH-ját. Az eredményeket a **2. ábrán** szemléltetem.

2. ábra A különböző vegyes kultúrákkal fermentált almalevek pH értékének alakulása 24 órás fermentációt követve
(Forrás: saját munka)



A diagrammon jól látható, hogy az almalev kezdeti 6,27-es pH értéke mind a négy beállítás esetében körülbelül azonos értékűre, pH 4,3-ra csökkent 24 óra alatt. Hasonló eredményeket ért el György (2022), aki szintén ezen vegyes kultúrákat vizsgálta, s pH 4,2-4,4-es értékeket mért az egyes beállításoknál. Az eredmények ismeretében elmondható, hogy a törzsek egymásra pozitív hatást gyakoroltak, mindegyik beállításban jól szaporodtak, melynek eredményeképp a fermentáció során az általuk termelt szerves savak csökkentették a pH-t.

4.1.2. Titrálható savtartalom meghatározása

A fermentáció 24. órájában mintát vettem és meghatároztam az egyes minták titrálható savtartalmát. Az eredményeket a **8. táblázat** tartalmazza.

8. táblázat: A fermentáció 24. órájában vett minták tejsavtartalma almalevben
(Forrás: saját munka)

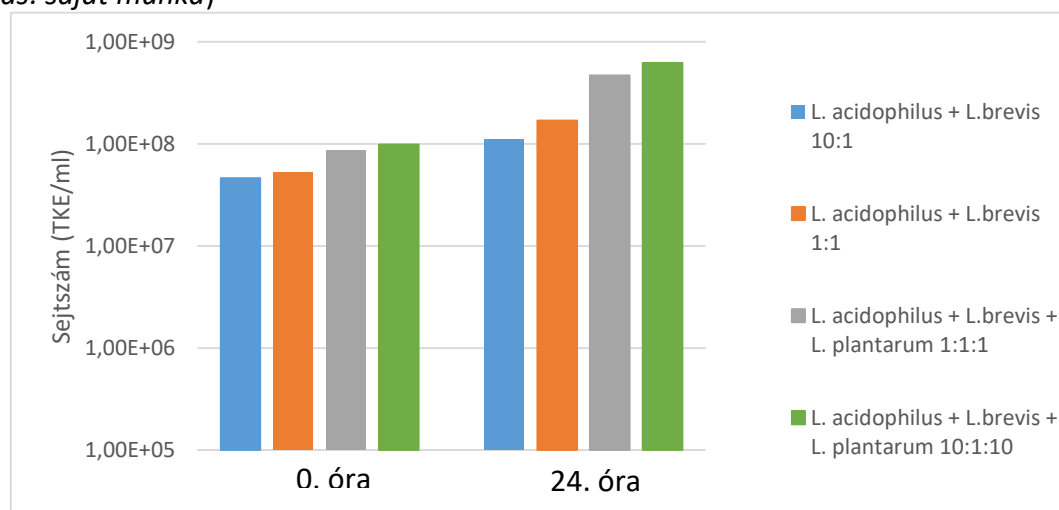
Minta	A minta tejsavra vonatkoztatott savtartalma (g/100 ml)
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> 10:1	0,62
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> 1:1	0,62
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> + <i>L. plantarum</i> 1:1:1	0,62
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> + <i>L. plantarum</i> 10:1:10	0,71

A *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* 10:1, illetve 1:1 és a *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum* 1:1:1 arányban történő fermentációja során 0,62 g/100 ml, míg a *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum* 10:1:10 arányban 0,71 g/100 ml tejsavat termeltek almalében. Wu és munkatársai (2020) különböző *Lactobacillus* törzs, köztük *Lactobacillus plantarum* 90 és *Lactobacillus acidophilus* 85 monokultúrák fermentációját vizsgálták almalében. Ők 24 órás fermentációt követve 0,2-0,3 g/100 ml tejsavtartalmat mértek. Ezek az eredmények is bizonyítják, hogy a három általam alkalmazott törzs segíti egymás növekedését és anyagcseréjét, mely a termelt tejsav mennyiségére is kedvező hatással bír.

4.1.3. Sejtszámok alakulása

A pH mérése mellett meghatároztam az élőcsíra számot is a fermentáció során. A vegyes kultúrák almalébe oltását megelőzően a három tejsavbaktérium kezdeti sejtszámát határoztam meg tizedelő hígítás és lemezöntés segítségével. A három tejsavbaktériumot ezután az arányoknak megfelelően beoltottam, 24 órás fermentáció után pedig mintákat vettem, tizedelő hígítást és lemezöntést végeztem. A vegyes kultúrák kiindulási sejtszámát kiszámoltam az egyes mikrobák sejtszámaiból a beoltási arányoknak megfelelően. Az eredmények a **3. ábrán** láthatók.

3. ábra: A vegyes kultúrák kezdeti sejtszáma almalében, illetve 24 órás fermentációt követően (Forrás: saját munka)



A **3. ábrát** megfigyelve látható, hogy a legtöbb kezdeti és végső sejtszámmal a *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* + *Lactobacillus plantarum* kultúra 10:1:10 arányával beoltott

fermentált almalé minta rendelkezik, ahol a kezdeti sejtszám $9,84 \cdot 10^7$ TKE/ml 24 óra erjesztést követően $6,2 \cdot 10^8$ TKE/ml-re nőtt.

A második legtöbb sejtszámmal szintén a három baktérium együttese rendelkezik, ahol minden tejsavbaktérium 1:1:1 arányba került beoltásra az almalébe és $4,7 \cdot 10^8$ TKE/ml sejthozamot ért el. Ennek a beállításnak a kezdeti sejtszáma $8,63 \cdot 10^7$ TKE/ml volt. Az első kettő beállításban a *Lactobacillus acidophilus* és a *Lactobacillus brevis* található meg 10:1 és 1:1 arányban. A *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* 10:1 aránya $4,63 \cdot 10^7$ TKE/ml-ről $1,10 \cdot 10^8$ TKE/ml-re nőtt. 1:1 beoltási arányuk esetén a sejtszám $5,25 \cdot 10^7$ TKE/ml-ről $1,7 \cdot 10^8$ TKE/ml-re nőtt.

Összességében elmondható, hogy egy nagyságrendnyi sejtszám növekedést sem tapasztaltam a 24 órás fermentációk során az almalében, mely arra enged következtetni, hogy az alma nem elég komplex tápközeg a tejsavbaktériumok számára. Chen és munkatársai (2019) szintén gyenge szaporodást tapasztaltak almalében, az általuk vizsgált *L. plantarum* és *L. acidophilus* törzsek sejtszáma nem haladta meg jelentősen a 7 log TKE/ml értéket.

4.1.4. Termelt antimikrobás anyag hatásának vizsgálata patogén mikroorganizmusokkal szemben

György (2022) munkája során ugyan ezen négy beállítással végzett fermentáció után nem mutatott ki gátló hatást a kórokozók ellen. Ezért szerettem volna megvizsgálni, hogy a fermentlé koncentráálásával érhető-e el gátlás. A fermentált almalevekből különböző mennyiségeket, 1, 5, 10 és 20 ml-t steril centrifugacsövekbe gyűjtöttem, a koncentrárást pedig liofilezéssel értem el. Liofilizáció után az 1 ml-es mintát 1 ml, az 5 és 10 ml térfogatból származót 2 ml, a 20 ml-es mintát pedig 5 ml desztillált vízben szuszpendáltam. Ezután megvizsgáltam a koncentrálatlan fermentlé és koncentrált almalevek apatogén baktérium fajokkal szembeni gátló hatását. A kísérletet agar-lyuk diffúziós módszerrel hajtottam végre. A lyukakba az 5 koncentrált minta került. Az antimikrobás hatás vizsgálatának eredményeit a **9. 10. 11. és 12. táblázat** tartalmazza.

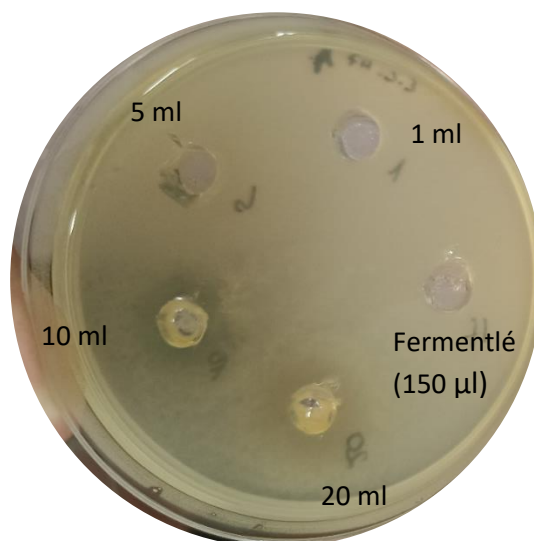
9. táblázat: *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* törzsekkel 10:1 arányban fermentált és különböző mennyiségekben liofilizált almalé minták gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben

(Forrás: saját munka)

	Feltisztulási zónák átmérője (mm)				
Fermentált almalé térfogata	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Listeria innocua</i>
Koncentrálatlan fermentlé (150 µl)	-	-	-	-	-
1 ml	-	-	-	-	-
5 ml	-	-	1	3	-
10 ml	5	2	2	4	2
20 ml	5	4	3	4	4

Látható (**9. táblázat**), hogy a koncentrálatlan fermentlé és az 1 ml fermentléből származó liofilizált minta egyik kórokozó ellen sem fejtett ki gátló hatást. 5 ml liofilizált fermentlénél azonban már 1, illetve 3 mm átmérőjű feltisztulási zóna vehető észre az *Enterococcus faecalis* és az *Enterobacter cloacae* törzsek ellen. A legeredményesebb hatást 10 és 20 ml fermentált almalé koncentrációja esetén mutattam ki, ahol mind az 5 kórokozó ellen termelődtek olyan anyagok, amelyek a gátlásukat eredményezték. A legnagyobb, 5 mm átmérőjű zónák is ennél a két térfogatnál figyelhetők meg, mindkét esetben az *Escherichia coli* ATCC 8739 törzs ellen. 4 mm átmérőjű zónák voltak az *Escherichia coli* O157:H7, *Enterobacter cloacae* és *Listeria innocua* ellen 20 ml koncentrált fermentált almalé esetében. A **4. ábrán** látható egy Petri-csésze, amin a különböző térfogatoknak megfelelően kialakult feltisztulási zónákat szemléltetem.

4. ábra: Fermentált almalé antimikrobás hatása *Escherichia coli* O157:H7 ellen - *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* 10:1 arányú beállítás
(Forrás: saját munka)



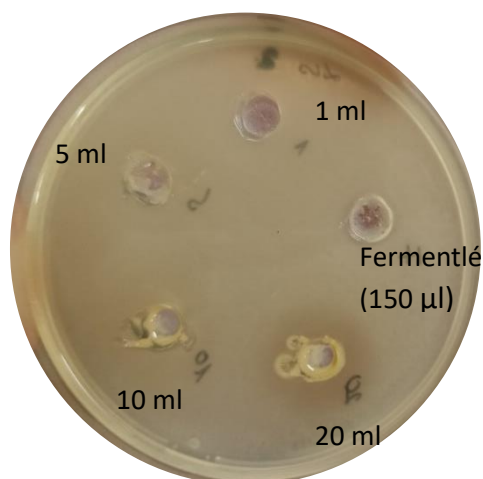
10. táblázat: *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* törzsekkel 1:1 arányban fermentált és különböző mennyiségekben liofilizált almalé minták gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben
(Forrás: saját munka)

	Feltisztulási zónák átmérője (mm)				
Fermentált almalé térfogata	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Listeria innocua</i>
Koncentrálatlan fermentlé (150 µl)	-	-	-	-	-
1 ml	-	-	-	-	-
5 ml	-	-	-	-	-
10 ml	5	2	3	5	2
20 ml	7	4	4	3	6

Ez a beállítás is ígéretes eredményeket hozott (**10. táblázat**) a 10 és 20 ml fermentléből származó liofilizált minták esetén. Sokkal erősebb feltisztulási zónát, gátló hatást figyeltem meg a nagyobb térfogatnál: az *Escherichia coli* ATCC 8739 ellen 7 mm-t, a *Listeria innocua* ellen pedig 6 mm-t (**5. ábra**). Ennek ellenére a *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* 1:1

aránya a fermentlében, illetve az 1 és 5 ml liofilizált fermentlé sem mutatott gátló hatást egy kórokozóval szemben sem.

5. ábra: Fermentált almalé antimikrobás hatása *Listeria innocua* ellen - *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* 1:1 arányú beállítás
(Forrás: saját munka)



11. táblázat: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis* és *Lactobacillus plantarum* törzsekkel 1:1:1 arányban fermentált almalé, illetve különböző mennyiségekben liofilizált fermentlé minták gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben
(Forrás: saját munka)

	Feltisztulási zónák átmérője (mm)				
Fermentált almalé térfogata	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Listeria innocua</i>
Koncentrálatlan fermentlé (150 µl)	-	-	-	-	-
1 ml	-	-	-	-	-
5 ml	-	-	-	2	-
10 ml	2	2	1	2	3
20 ml	3	3	2	3	6

A három tejsavbaktérium 1:1:1 arányban is termelt annyi antimikrobás anyagot, hogy jól látható zónák alakuljanak ki (**11. táblázat**). Egy intenzívebb gátlást tapasztaltam a *Listeria innocua* ellen 20 ml fermentlé koncentrációja esetén. Szintén a 20 ml-es mintával 3 mm

nagyságú zónákat határoztam meg a két *Escherichia coli* és az *Enterobacter cloacae* ellen. A koncentrálatlan fermentlé, illetve az 1 ml koncentrált fermentlé itt sem mutatott gátlást. 5 ml térfogatból koncentrált mintánál csak az *Enterobacter cloacae* ellen mértem 2 mm átmérőjű zónát.

12. táblázat: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis* és *Lactobacillus plantarum* törzsekkel 10:1:10 arányban fermentált almalé, illetve különböző mennyiségekben liofilizált fermentlé minták gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben
(Forrás: saját munka)

	Feltisztulási zónák átmérője (mm)				
Fermentált almalé térfogata	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Listeria innocua</i>
Koncentrálatlan fermentlé (150 µl)	-	-	-	-	-
1 ml	-	-	-	-	-
5 ml	-	2	2	2	6
10 ml	2	3	3	2	7
20 ml	5	3	4	4	8

A *Lactobacillus acidophilus* és a *Lactobacillus plantarum* nagyobb arányban történő beoltása megnövelte az antimikrobás anyagok termelődését, hiszen már 5 ml liofilizált fermentlé esetében is sokkal több kórokozónál tapasztaltam gátlást, mint az eddigi beállításoknál. A leglátványosabb zónákat ismét a *Listeria innocua*-nál figyelhettem meg, 5, 10 és 20 ml mintánál (**12. táblázat**).

Az eredményeket összevetve a négy beállításból kiválasztottam a két legjobbnak ítélt beállítást. A *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* 1:1, illetve a *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* + *Lactobacillus plantarum* 10:1:10 aránya volt az, amelyik a legtöbb, legnagyobb átmérőjű feltisztulási zónát eredményezte a különböző mennyiségű fermentált almaléból készített koncentrált minták esetén. Örömmel elmondható ettől függetlenül, hogy minden vegyes kultúra által termelt antimikrobás anyag sikeresen gátolta a vizsgált kórokozókat.

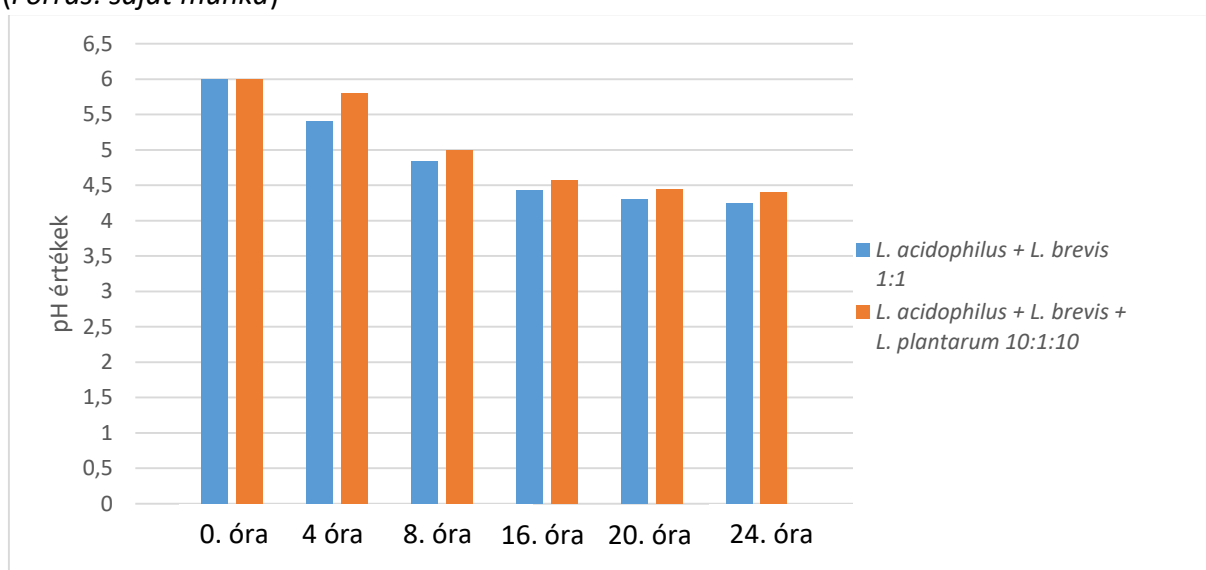
4.2. Antimikrobás anyag termelés időbeli alakulásának vizsgálata

Következő kísérletemben az előzőben kiválasztott két beállítással ismételt meg a vegyes kultúras erjesztést, s arra kerestem a választ, hogy hogyan alakul az antimikrobás anyagok termelése egy 24 órás fermentáció során. Mintákat a fermentáció 4., 8., 16., 20. és 24. órájában vettem.

4.2.1. pH értékek változása

A fermentáció során meghatározott időközönként mintát vettem a lombikokból és megmértem a pH-t. Az eredmények a **6. ábrán** láthatók.

6. ábra: Az almalevek pH változása *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* 1:1, illetve *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* + *Lactobacillus plantarum* 10:1:10 arányban történő fermentációja során
(Forrás: saját munka)



A két vegyes kultúras almalev pH-ja az idő során megfelelő mértékben csökkent (**6. ábra**). A *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* 1:1 arányú beoltásával fermentált almalev pH-ja a kezdeti 6,00-ról 24 óra alatt pH 4,25-re csökkent, míg a *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* + *Lactobacillus plantarum* 10:1:10 aránya pH 4,40 kémhatású közeget eredményezett.

A *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* 1:1 arányú beoltásával fermentált almalev pH-ja nagyobb mértékben csökkent az első 4 órában, nagy különbség volt a két beállítás között. Ez a

különbség 8 óra után csökkent, 16 óra után pedig már nem volt jelentős változás a kémhatásokban, ráadásul a két beállítás közötti pH különbség is lecsökkent. Valószínűleg a stationer fázisba értek a mikroorganizmusok.

4.2.2. Termelt antimikrobás anyag hatásának vizsgálata patogén mikroorganizmusokkal szemben

A fermentáció 4., 8., 16., 20. és 24. órájában – mivel az egyik legeredményesebb térfogat volt az előző kísérletben – 10 ml mintát vettem a lombikokból sterilizált centrifugacsőbe és a mintákat liofilizáltam. A liofilizálást követően a csövekbe 2 ml steril desztillált vizet pipettáztam, tartalmát pedig homogenizáltam. A vizsgálatot agar-lyuk diffúziós módszerrel hajtottam végre. A táptalajból kivágott lyukakba az adott beállítás fermentációja során különböző időpontban levett mintái kerültek. Az antimikrobás hatás vizsgálatának eredményeit a **13. és 14. táblázat** tartalmazza.

13. táblázat: *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* törzsekkel 1:1 arányban fermentált, különböző időpontokban vett, majd liofilizált almalé minták gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben

(Forrás: saját munka)

	Feltesztulási zónák átmérője (mm)				
Mintavétel időpontja	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Listeria innocua</i>
4. óra	-	-	0,5	-	-
8. óra	1,5	2	1	1	2
16. óra	2	2,5	2	2	3
20. óra	3	3	4	2	3
24. óra	4	4	5	4	4

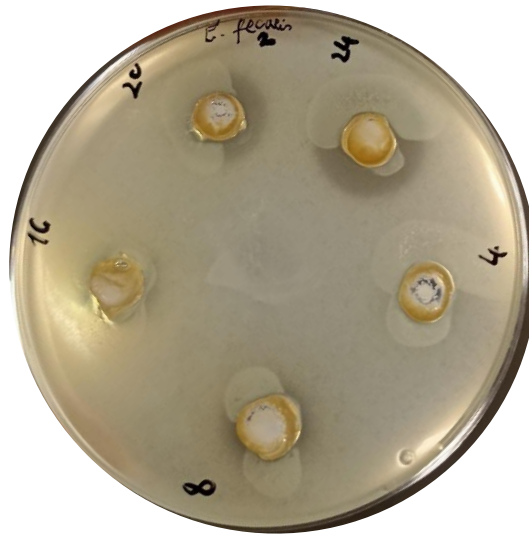
14. táblázat: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis* és *Lactobacillus plantarum* törzsekkel 10:1:10 arányban fermentált, különböző időpontokban vett, majd liofilizált almalé minták gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben
(Forrás: saját munka)

Mintavétel időpontja	Feltisztulási zónák átmérője (mm)				
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Listeria innocua</i>
4. óra	-	-	-	-	-
8. óra	1	1	1	1	0,5
16. óra	2	2	1	2,5	2
20. óra	2	2	2	2	2
24. óra	1,5	3	3	3	3

A fermentáció elején, 4 óránál, egy kivétellel nem tapasztaltam gátlást egyik beállításnál sem. Egyedül a *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* 1:1 arányú beállításnál az *Enterococcus faecalis* ellen véltem felfedezni egy kisebb, 0,5 mm átmérőjű feltisztulási zónát (**13. táblázat**). Ez, illetve a pH kismértékű csökkenése igazolja azt, hogy bár a szaporodás elkezdődött, az még nem akkora mértékű, hogy a termelt metabolitok lényeges gátlást mutassanak. 8 és 16 óránál minden kórokozó ellen tapasztaltam gátlást, de még ekkor sem volt számottevő a zónák nagysága, ami 1, maximum 2,5 mm volt.

Hasonlóan az első kísérlethez, a 24 órás fermentációt követően nagyobb feltisztulási zónák alakultak ki, ami a sejtek stacioner fázisban lévő nagyobb mennyiségű termékképződésének köszönhető. Egyedül a *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis* és *Lactobacillus plantarum* törzsekkel 10:1:10 arányban fermentált, liofilizált almalé esetében, az *Escherichia coli* ATCC 8739-cel szemben (**14. táblázat**) tapasztaltam kisebb zónát. Ez a beállítás a többi kórokozóval szemben 3 mm-es, míg a *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* törzsekkel 1:1 arányban fermentált, liofilizált almalé 4-5 mm átmérőjű zónákat eredményezett (**13. táblázat**). A **7. és 8. ábrán** a két beállítás eredményes gátlásai láthatók.

7. ábra: Fermentált almalé antimikrobás hatása *Enterococcus faecalis* ellen a fermentáció különböző időpontjaiban - *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* 1:1 arányú beállítás
(Forrás: saját munka)



8. ábra: Fermentált almalé antimikrobás hatása *Enterococcus faecalis* ellen a fermentáció különböző időpontjaiban – *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* + *Lactobacillus plantarum* 10:1:10 arányú beállítás
(Forrás: saját munka)



A két beállítás közül a jobbnak a *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* 1:1 arányú beállítása tekinthető. Ezen fermentált közeg pH-ja mindvégig alacsonyabb volt, több tejsav keletkezett, tehát jobban is szaporodtak és több antimikrobás anyagot termeltek az alkalmazott mikroorganizmusok, mely nagyobb feltisztulási zónákat eredményezett. Kijelenthető, hogy a 24 órás fermentációs idő volt a legeredményesebb mindkét beállításnál.

4.3. *Lactobacillus* törzsek antimikrobás anyag termelésének fokozása

A továbbiakban az előző kísérletben kiválasztott legjobb beállítással dolgoztam, amely a *Lactobacillus acidophilus*-t és a *Lactobacillus brevis*-t tartalmazza 1:1 arányban.

Ebben a kísérletemben arra kerestem a választ, hogy az antimikrobás anyag termelés fokozható-e a *Lactobacillus* törzsek kórokozó mikrobák elölt sejtjeivel történő együttes szaporítása során, almalében. Ezt az elgondolást Maldonado és munkatársai (2004) kísérletei adták, ugyanis munkájuk során a *Lactobacillus plantarum* NC8 által termelt, PLNC8 bakteriocin termelését különböző inaktivált mikroorganizmusokkal indukálták. Eredményeik alapján a bakteriocin termelés fokozása elérhető a *Lactobacillus*-ok más mikrobák elölt sejtjeivel történő együttes szaporítása során.

A kísérletem során az előzetesen felszaporított kórokozókat hőkezeléssel előltem, majd a sejteket 80 ml almalébe oldottam. A lombikokba ezután 1:1 arányban beoltottam a tejsavbaktériumokat is, majd 37 °C-on inkubáltam őket. A fermentáció 16., 20. és 24. órájában 10 ml mintát vettem és a korábbiaknak megfelelően liofilizált mintákat agar-lyuk diffúziós módszerrel vizsgáltam. Az antimikrobás hatás vizsgálatának eredményeit a **15., 16. és 17. táblázat** tartalmazza.

15. táblázat: *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* törzseket 1:1 arányban, valamint elölt kórokozókat tartalmazó 16 órás fermentált almalé gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben

(Forrás: saját munka)

Kórokozók elleni gátló hatás	Feltisztulási zóna nagysága (mm)				
	Az almalében lévő elölt kórokozó				
	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Listeria innocua</i>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	3	2	3	1
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	1	-	3	2	2
<i>Listeria innocua</i>	2	-	3	2	2
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	3	2	2,5	4	3

A **15. táblázat**ot megfigyelve, elmondható, hogy az előlt kórokozókkal együtt szaporított *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* 16 órás fermentációnál is termelt valamennyi antimikrobás anyagot, amelynek hatása majdnem minden kórokozóval szemben látható volt. Az előlt *Enterobacter cloacae*-t tartalmazó fermentált almalé minden kórokozóval szemben termelt antimikrobás anyagot. Az előlt *Escherichia coli* ATCC 8739, *Listeria innocua* és *Escherichia coli* O157:H7 tartalmú almalé hatása csak az *Enterobacter cloacae* ellen nem látható. A legnagyobb, 4 mm nagyságú feltisztulási zónát az előlt *Listeria innocua* tartalmú almalé esetében mutattam ki, *Escherichia coli* O157:H7 ellen.

16. táblázat: *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* törzseket 1:1 arányban, valamint előlt kórokozókat tartalmazó 20 órás fermentált almalé gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben

(Forrás: saját munka)

Kórokozók elleni gátló hatás	Feltisztulási zóna nagysága (mm)				
	Az almalében lévő előlt kórokozó				
	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Listeria innocua</i>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	0,5	2	1,5	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	3	3	3	4
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	1,5	-	1	1	2
<i>Listeria innocua</i>	2	-	2	3	2
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	3	3	4	4	3

A **16. táblázat** eredményei alapján jól látható, hogy a 20 órás minták sok esetben nagyobb feltisztulási zónákat eredményeztek, mint a 16 órás minták. Az *Enterobacter cloacae* ellen minden előlt kórokozót tartalmazó minta esetében különböző mértékű gátlás mutatható ki. Az *Escherichia coli* ATCC 8739 és *Listeria innocua* ellen az előlt *Enterococcus faecalis* tartalmazó 16 és 20 órás minta sem fejtett ki gátló hatást.

A legkisebb zóna – mindössze 0,5 mm – az *Enterobacter cloacae* ellen alakult ki, amit az előlt *Enterococcus faecalis* tartalmazó fermentált almalében jelenlévő antimikrobás anyagok okoztak. A legnagyobb átmérőjű zónák 3 és 4 mm nagyságúak voltak. Az *Escherichia coli* O157:H7 ellen minden előlt kórokozót tartalmazó minta esetében ekkora zónákat mértem.

17. táblázat: *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* törzseket 1:1 arányban, valamint elölt kórokozókat tartalmazó 24 órás fermentált almalé gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben
(Forrás: saját munka)

Kórokozók elleni gátló hatás	Feltisztulási zóna nagysága (mm)				
	Az almalében lévő elölt kórokozó				
	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Listeria innocua</i>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	1	2	1	2
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	4	3	4	5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	1	2	1	1	1
<i>Listeria innocua</i>	3	2	2	3	3
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	3	4	3	3	3

Ahogy eddigi kísérleteim során tapasztaltam, a 24 órás minták (**17. táblázat**) eredményezték a legnagyobb feltisztulási zónákat. A legtöbb zóna 3-4 mm nagyságú volt, kivéve egy esetben: az *Enterococcus faecalis* ellen 5 mm átmérőjű zóna alakult ki, amit az inaktivált *Escherichia coli* O157:H7 törzset tartalmazó minta okozott.

Ezen eredményeket összevetve az előző kísérleti eredményekkel elmondható, hogy az elölt kórokozók jelenléte nem fokozta, de nem is gátolta az antimikrobás anyagok termelését, hatását.

A fermentáció során a 24 órás minták savtartalmát is meghatároztam a 4.3.9. pontban leírtak szerint. Ennek eredménye a **18. táblázat**ban látható.

18. táblázat: A fermentáció 24. órájában vett minták tejsavtartalma
(Forrás: saját munka)

Minta	A minta tejsavra vonatkoztatott savtartalma (g/100ml)
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> 1:1 + elölt <i>Enterobacter cloacae</i>	0,53
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> 1:1 + elölt <i>Enterococcus faecalis</i>	0,71
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> 1:1 + elölt <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	0,62
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> 1:1 + elölt <i>Listeria innocua</i>	0,53
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> 1:1 + elölt <i>Escherichia coli</i> O157:H7	0,53

Ami a minták savtartalmát illeti, az elölt kórokozókat tartalmazó beállítás mintái közel azonos értékben tartalmazznak tejsavat. Egyetlen egy kiemelkedő érték van köztük, az elölt *Enterococcus faecalis*-t tartalmazó minta, ami 0,71 g/100ml savtartalommal rendelkezik. A 4.1.2. fejezetben elért eredményekkel csaknem azonos savtartalmakat mértem, tehát összességében elmondható, hogy a tejsavbaktériumokkal fermentált almalé savtartalmán nem változtat az elölt kórokozók jelenléte a mintában.

4.4 *Lactobacillus*-ok hisztamin termelése

A vizsgálatot a négy, *Lactobacillus*-okat vegyes arányban tartalmazó almalé beállítással, illetve az öt elölt kórokozóval szaporított *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* törzseket 1:1 arányban tartalmazó almalé beállítással végeztem. A vegyes kultúrákkal végzett fermentációt 3.3.2., illetve a 3.3.7. fejezetben leírtak szerint végeztem. A fermentáció különböző időpontjaiban mintát vettem, ezen mintákból történt a meghatározás.

A különböző hisztamin koncentrációhoz tartozó területek segítségével kalibrációs egyenest készítettem, az egyenes egyenletével pedig kiszámoltam a minták hisztamintartalmát, melyek a **19. és 20. táblázat**ban láthatók.

19. táblázat: A négy vegyes kultúra hisztamin termelése almalé fermentáció során az idő függvényében

(Forrás: saját munka)

Minta	Hisztamin termelés (mg/ml)		
	16 óra	20 óra	24 óra
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> 10:1	-	0,030	0,017
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> 1:1	-	0,029	0,009
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> + <i>L. plantarum</i> 1:1:1	-	0,024	0,022
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> + <i>L. plantarum</i> 10:1:10	-	0,012	0,009

20. táblázat: Az előlt kórokozókat tartalmazó beállítás hisztamin termelése almalé fermentáció során az idő függvényében

(Forrás: saját munka)

Minta	Hisztamin termelés (mg/ml)		
	16 óra	20 óra	24 óra
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> 1:1 + előlt <i>Enterobacter cloacae</i>	-	0,031	0,012
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> 1:1 + előlt <i>Enterococcus faecalis</i>	-	0,034	0,023
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> 1:1 + előlt <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	0,016	0,031	0,022
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> 1:1 + előlt <i>Listeria innocua</i>	0,021	0,024	0,012
<i>L. acidophilus</i> + <i>L. brevis</i> 1:1 + előlt <i>Escherichia coli</i> O157:H7	0,019	0,031	0,020

Az eredményeket megfigyelve, látható, hogy 16 óra fermentáció után mindössze három mintában termelődött detektálható mennyiségben hisztamin. Ez az előlt *Escherichia coli* ATCC 8739-et, *Listeria innocua*-t és *Escherichia coli* O157:H7-et tartalmazó *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* 1:1 arányú mintái. 20 óránál már minden mintában mérhető volt a hisztamin, ami átlagosan 0,020-0,034 mg/ml. A legnagyobb koncentráció 0,034 mg/ml, amivel az előlt *Enterococcus faecalis*-t tartalmazó minta rendelkezett. A fermentáció 24. órájára minden mintában lecsökkent a hisztamin koncentráció. A legkevesebb mennyiséget a *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* 1:1 és a *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* + *Lactobacillus plantarum* 10:1:10 arányú fermentációja eredményezte, ami mindössze 0,009 mg/ml volt. Valószínűsíthető, hogy a pH fokozatos csökkenése okozta a hisztaminkoncentráció csökkenését, hiszen az alacsony pH nem kedvez a tejsavbaktériumok

hisztamin termelésének. Továbbá két minta *Lactobacillus plantarum*-ot is tartalmazott, ami bizonyítottan hisztaminbontó képességgel rendelkezik (Kung et al., 2017).

Az általam mért értékek jóval a megengedett napi bevitel alatt vannak, ami 50 mg/kg. Ezek a mérési eredményeim is igazolják, hogy a *Lactobacillus* törzsekkel fermentált élelmiszerek biztonsággal fogyaszthatók. Hasonló megállapítást tett Kilin (2018), aki a *Lactobacillus salivarius* HA-118 törzs 16 órás fermentációjának végére 0,047 mg/ml hisztamint mért.

5. Következtetések és javaslatok

- Munkám során *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* és *Lactobacillus acidophilus* vegyes kultúrák fermentációját követtem nyomon almalében, amely során a keletkező anyagcseretermékek antimikrobiális hatását vizsgáltam a következő apatogén mikroorganizmusok ellen: *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Listeria innocua*, *Escherichia coli* O157:H7. A vegyes kultúrák a *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* törzs 10:1, illetve 1:1 arányban, továbbá *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis* és *Lactobacillus plantarum* törzsek 1:1:1, illetve 10:1:10 arányban voltak. Megállapítottam, hogy a fermentált almalé minták koncentrálnak hatására gátló hatást mutattak, 7-8 mm átmérőjű zónákat is mértem egyes kórokozók ellen. Ebben a kísérletben a sejtszámok és a pH változása is azt mutatta, hogy a törzsek egymásra pozitív hatást gyakoroltak, jól szaporodtak együtt almalében.
- Az antimikrobás hatás növekedésének vizsgálatát az idő függvényében az előző kísérletből jobbnak ítélt *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* 1:1, illetve *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* + *Lactobacillus plantarum* 10:1:10 arányú beállításával végeztem el. A 4, 8, 16, 20 és 24 óránként vett, koncentrált minták eredményeként 16, 20 és 24 óránál 3-5 mm-es feltisztulási zónákat detektáltam. A legeredményesebb a 24 óra volt, ahol 4-5 mm nagyságú zónákat mértem a kórokozók ellen, a *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* törzseket 1:1 arányban tartalmazó almalé esetén. Következő kísérletemben ezt a beállítást vizsgáltam.
- A törzsek antimikrobás hatásának fokozására irányuló kísérleteim során, melynél a tejsavbaktériumok felszaporítása előtt kórokozók jelenlétében történt, Maldonado és munkatársai (2003) eredményeivel ellentétben, én nem tapasztaltam az antimikrobás hatás fokozódását.
- A négy különböző arányú tejsavbaktériumokkal fermentált almalében és az előtt kórokozókat tartalmazó beállítás esetén is vizsgáltam a hisztamin termelést az idő függvényében. Megállapítottam, hogy a szakirodalmi adatok szerint a megengedett, egészségre nem ártalmas hisztaminértéket, mely az élelmiszerekben 50 mg/kg, a mintáim egyik esetben sem lépték át.

- Kutatásaim eredményei, összevetve a szakirodalomban található eredményekkel, biztatóak a jövőre nézve, hiszen az egyezőségek azt jelenthetik, hogy ezen kutatások reprodukálhatók. A pozitív eredmények birtokában, a nem tej alapú probiotikus termékek kifejlesztése egy kiváló cél lehet annak érdekében, hogy olyanok számára is elérhetőek legyenek a probiotikus termékek, akik nem tudnak tej alapú készítményeket fogyasztani.

Javaslatok:

- A rendelkezésre álló eredményeket figyelembe véve úgy gondolom, érdemes lehet ugyanezen tejsavbaktériumtörzsek fermentációját és antimikrobás hatását megvizsgálni más kiindulási szubsztrátummal is.
- Célszerű volna meghatározni pontosan, milyen jellegű anyag fejti ki az antimikrobiális hatást és további módszereket alkalmazni (akár a prebiotikumok hatását vizsgálni) a hatás fokozására.
- A hisztamin termelés mellett, a méréseket ki kell terjeszteni más biogén aminok meghatározására is.
- Hasonló fermentált, probiotikus készítmények fejlesztése és piacra kerülése előtt érzékszervi vizsgálatok végzése indokolt.

6. Összefoglalás

A tejsavbaktériumok szerepe az emberi egészségben és az élelmiszeriparban vitathatatlan, hiszen az emberiség már régóta alkalmazza őket tartósításra, élelmiszerek előállítására. Számos kutatás szól a tejsavbaktériumok által termelt antimikrobiális hatású anyagcseretermékekről, amelyek hozzájárulnak egyes kórokozók elpusztításához, vagy visszaszorításához. Ez azért is remek, mivel folyamatosan nő az igény olyan termékek iránt, amelyek nem tartalmaznak mesterséges tartósítószerket, vegyi adalékanyagokat és biztonságosak. Ezen okokból kifolyólag mindenképp hasznos és ajánlatos tejsavbaktériumokat tartalmazó élelmiszereket fogyasztanunk. Ráadásul a ma használatos probiotikumok is a tejsavbaktériumok közül kerülnek ki. A kereskedelmi forgalomban azonban többségében tejalapú probiotikus termékek vannak, amit sajnos nem mindenki fogyaszt, fogyaszthat. Ezért nélkülözhetetlen olyan probiotikus termékek fejlesztése is, amelyek zöldség, gyümölcs, vagy gabona alapúak.

Dolgozatom céljaként választottam *Lactobacillus*-ok almalében történő vegyes fermentációjának nyomonkövetését 5 v/v % inokulum beoltottság mellett. Az almalevekbe beoltásra került *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* törzs 10:1, illetve 1:1 arányban, továbbá *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis* és *Lactobacillus plantarum* törzsek 1:1:1, illetve 10:1:10 arányban, majd 37°C-on 24 óráig inkubáltam őket.

Az antimikrobás hatást agar-lyuk diffúziós módszer segítségével vizsgáltam. Célul tűztem ki továbbá az antimikrobás anyag termelés fokozhatóságának vizsgálatát előlt kórokozók alkalmazásával, továbbá szerettem volna megvizsgálni történt-e egészségügyi szempontból nagyobb mennyiségű hisztamin termelődés az almalé fermentációja során.

Az első kísérletem során *Lactobacillus*-ok vegyes kultúras fermentációját követtem nyomon. Mind a pH változás, mind a sejtszámok változása azt a visszacsatolást adta, hogy a három, különböző arányokban beoltott törzs egymásra pozitív hatást gyakorolt, a sejtek megfelelően szaporodtak az almalében. A pH minden minta esetén a kezdeti 6,27-es értékről pH 4,23-ra csökkent. A 24 órás fermentációt követően vizsgáltam az almalé minták során az antimikrobás hatását *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter faecalis*, *Listeria innocua*, *Escherichia coli* ATCC 8739 és *Escherichia coli* O157:H7 ellen. Mivel György (2022) ugyanezekkel a beállításokkal nem

tapasztalt gátlást, liofilizálással koncentráltam a fermentált almalevek különböző mennyiségeit. Megállapítottam, hogy a 10 és 20 ml minta esetében, de néhol az 5 ml koncentrált fermentlé is okozott gátlást egyes kórokozóknál, s 3 mm-től 7-8 mm-ig terjedő feltisztulási zónákat mértem. A legjobb beállítások esetén a *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* 1:1, illetve a *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* + *Lactobacillus plantarum* törzseket 10:1:10 arányban tartalmazó almalé antimikrobás anyag termelésének időbeli alakulását is követtem, 4, 8, 16, 20 és 24 órás fermentáció során. A pH jelentősen lecsökkent az idő előre haladtával, pH 6,00-ról pH 4,4-4,2-es értékre mindkét minta esetében. A fermentáció 4. és 8. órájában egyáltalán nem, vagy nagyon kis, 0,5-1 mm átmérőjű feltisztulási zónákat mértem. Ezen minták esetében a pH csökkenés is még csak kezdetleges volt, ami jól mutatja, hogy ugyan a szaporodás és a fermentáció elkezdődött, olyan nagy mértékű antimikrobás anyag termelés még nem ment végbe. A 16., 20. és 24. órában vett mintáknál már nagyobb, 2-5 mm nagyságú zónákat mértem. Az eredmények egyértelműen azt mutatták, hogy a 24 órás fermentációs idő volt a legeredményesebb, mind szaporodás, mind pedig bakteriocin termelés szempontjából. A legjobb eredményeket a *Lactobacillus acidophilus* + *Lactobacillus brevis* 1:1 arányú fermentációja mutatta.

A *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* 1:1 arányú beoltásával indított almalé fermentáció esetén céloztam meg az antimikrobás anyag termelés fokozását, a kórokozókkal inaktivált formában történő együttszaporítás során. Az inaktiválást TSB táplevesben 24 óra alatt felszaporított kórokozók 1 órán át 55 °C-on történő hőkezelésével valósítottam meg. Ezt követően centrifugálással a sejtmentes felülúszót elválasztottam, majd a centrifugacső aljára kiülepedett, elölt kórokozó sejteket almalébe szuszpendáltam. Ezután oltottam bele a két tejsavbaktériumot, majd 37 °C-on inkubáltam. Mintákat a fermentáció 16., 20. és 24. órájában vettem. Hasonlóan Maldonado és munkatársai (2003) eredményeihez, kísérletemben én is tapasztaltam gátlásokat, szinte majdnem minden esetben, azonban az inaktivált kórokozók nem fokozták az antimikrobás hatást, az eddigi kísérleteim során látott zónáknál nem tapasztaltam nagyobbakat. Átlagosan 3-4 mm átmérőjű zónákat mértem, főleg a 20 és 24 órás minták esetében.

A tejsavbaktériumok biogén amint szintetizálnak, mivel metabolizmusuk során képesek az aminosavak dekarboxilezésére. A hisztamin különböző fermentált élelmiszerekben is jelen lehet, azonban túlzott mennyiségben fogyasztva komoly egészségügyi kockázatokat, allergiás

reakciókat, ételmérgezést okozhat. Ezen oknál fogva fontosnak tartottam megvizsgálni, hogy az általam használt tejsavbaktérium törzsek milyen mértékben termelnek hisztamint. A vizsgálatot a négy, *Lactobacillus*-okat vegyes arányban tartalmazó fermentált almalé, illetve az öt elölt kórokozóval szaporított *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* törzseket 1:1 arányban tartalmazó almalé 16., 20. és 24. órájában vett mintái esetén végeztem el. A mintákat származékképzéssel előkészítettem, majd HPLC segítségével megmértem. A hisztamin meghatározáshoz standard segítségével egy kalibrációs egyenest készítettem és az egyenes egyenletével számoltam ki a koncentrációkat ez egyes mintákban. A fermentáció 16. órájában csak az elölt *Escherichia coli* ATCC 8739-et, *Listeria innocua*-t és *Escherichia coli* O157:H7-et tartalmazó *Lactobacillus acidophilus* és *Lactobacillus brevis* 1:1 arányú mintái tartalmaztak detektálható mennyiségben, 0,016 mg/ml, 0,021 mg/ml és 0,019 mg/ml koncentrációban hisztamint. A fermentáció 20. órájában már minden minta tartalmazott hisztamint, 0,012 mg/ml és 0,034 mg/ml között. A fermentáció végére minden mintában lecsökkent a koncentráció, a legnagyobb is már csak 0,023 mg/ml volt, míg a legkisebb 0,009 mg/ml. A biogén amin jelenlétének csökkenését valószínűleg a pH csökkenése okozta, mivel az alacsonyabb pH nem kedvez a tejsavbaktériumok hisztamin termelésének. Továbbá két minta *Lactobacillus plantarum*-ot is tartalmazott, ami bizonyítottan hisztaminbontó képességgel rendelkezik (Kung et al., 2017). A megengedett, egészségre nem káros 50 mg/kg hisztamin értéket egyik minta sem érte el.

Összegezve megállapítható, hogy az általam vizsgált tejsavbaktériumok termelnek antimikrobás anyagot, a gátlás pedig kimutatható, ha liofilizálással koncentráljuk a mintákat. A vizsgált tejsavbaktériumok nem termelnek egészségre káros mennyiségben hisztamint, ami mindenképp meggyőző. A szakirodalmi cikkekkel, szakdolgozatokkal való egyezések biztatók, hiszen az eredmények megfelelő alapot biztosítanak egy mindenki számára elérhető, egészségre jótékony hatását gyakorló, nem tej alapú probiotikus termék kifejlesztésére. Elért eredményeim megítélésem szerint hozzájárulhatnak további kísérletek előkészítéséhez.

7. Irodalomjegyzék

- Adams, M., 1999. Safety of industrial lactic acid bacteria. *Journal of Biotechnology* 68, 171–178. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(98\)00198-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(98)00198-9)
- Ahmad, V., Khan, M.S., Jamal, Q.M.S., Alzohairy, M.A., Al Karaawi, M.A., Siddiqui, M.U., 2017. Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation. *International Journal of Antimicrobial Agents* 49, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.08.016>
- Ammor, M.S., Mayo, B., 2007. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat Science* 76, 138–146. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.10.022>
- Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E., Chevallier, I., 2006. Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility. *Food Control* 17, 454–461. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.02.006>
- Anderson, J.W., Baird, P., Davis Jr, R.H., Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A., Waters, V., Williams, C.L., 2009. Health benefits of dietary fiber. *Nutrition Reviews* 67, 188–205. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00189.x>
- Anjum, N., Maqsood, S., Masud, T., Ahmad, A., Sohail, A., Momin, A., 2014. *Lactobacillus acidophilus* : Characterization of the Species and Application in Food Production. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 54, 1241–1251. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.621169>
- Banerjee, S., Kanaujia, A., Malik, S., Sharma, S., 2022. Bacteriocins: potential usages and mechanism of action. *International Journal of Recent Advances in Multidisciplinary Research* 09, 7897–7906.
- Barbieri, F., Montanari, C., Gardini, F., Tabanelli, G., 2019. Biogenic Amine Production by Lactic Acid Bacteria: A Review. *Foods* 8, 17. <https://doi.org/10.3390/foods8010017>
- Bernardeau, M., Guguen, M., Vernoux, J.P., 2006. Beneficial *lactobacilli* in food and feed: long-term use, biodiversity and proposals for specific and realistic safety assessments. *FEMS Microbiol Rev* 30, 487–513. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2006.00020.x>
- Blandino, A., Al-Aseeri, M.E., Pandiella, S.S., Cantero, D., Webb, C., 2003. Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Research International* 36, 527–543. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(03\)00009-7](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(03)00009-7)
- Buts, J.-P., 1999. Mechanisms of Action of Biotherapeutic Agents, in: Elmer, G.W., McFarland, L.V., Surawicz, C.M. (Eds.), *Biotherapeutic Agents and Infectious Diseases*. Humana Press, Totowa, NJ, pp. 27–46. https://doi.org/10.1007/978-1-59259-711-6_2
- Caplan, M.S., Jilling, T., 2000. Neonatal necrotizing enterocolitis: possible role of probiotic supplementation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 30 Suppl 2, S18–22.
- Carr, F.J., Chill, D., Maida, N., 2002. The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Reviews in Microbiology* 28, 281–370. <https://doi.org/10.1080/1040-840291046759>

- Chen, C., Lu, Y., Yu, H., Chen, Z., Tian, H., 2019. Influence of 4 lactic acid bacteria on the flavor profile of fermented apple juice. *Food Bioscience* 27, 30–36. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.11.006>
- Comas-Basté, O., Sánchez-Pérez, S., Veciana-Nogués, M.T., Latorre-Moratalla, M., Vidal-Carou, M.D.C., 2020. Histamine Intolerance: The Current State of the Art. *Biomolecules* 10, 1181. <https://doi.org/10.3390/biom10081181>
- Del Piano, M., Morelli, L., Strozzi, G.P., Allesina, S., Barba, M., Deidda, F., Lorenzini, P., Ballaré, M., Montino, F., Orsello, M., Sartori, M., Garelo, E., Carmagnola, S., Pagliarulo, M., Capurso, L., 2006. Probiotics: from research to consumer. *Digestive and Liver Disease* 38, S248–S255. [https://doi.org/10.1016/S1590-8658\(07\)60004-8](https://doi.org/10.1016/S1590-8658(07)60004-8)
- Deng, Y., Misselwitz, B., Dai, N., Fox, M., 2015. Lactose Intolerance in Adults: Biological Mechanism and Dietary Management. *Nutrients* 7, 8020–8035. <https://doi.org/10.3390/nu7095380>
- Doeun, D., Davaatseren, M., Chung, M.-S., 2017. Biogenic amines in foods. *Food Sci Biotechnol* 26, 1463–1474. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0239-3>
- Erem, E., Kilic-Akyilmaz, M., 2024. The role of fermentation with lactic acid bacteria in quality and health effects of plant-based dairy analogues. *Comp Rev Food Sci Food Safe* 23, e13402. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13402>
- Fioramonti, J., Theodorou, V., Bueno, L., 2003. Probiotics: what are they? What are their effects on gut physiology? *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 17, 711–724. [https://doi.org/10.1016/S1521-6918\(03\)00075-1](https://doi.org/10.1016/S1521-6918(03)00075-1)
- Giraffa, G., Chanishvili, N., Widyastuti, Y., 2010. Importance of *Lactobacilli* in food and feed biotechnology. *Research in Microbiology* 161, 480–487. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2010.03.001>
- Glass, R.I., Lew, J.F., Gangarosa, R.E., LeBaron, C.W., Ho, M.-S., 1991. Estimates of morbidity and mortality rates for diarrheal diseases in American children. *The Journal of Pediatrics* 118, S27–S33. [https://doi.org/10.1016/S0022-3476\(05\)81422-2](https://doi.org/10.1016/S0022-3476(05)81422-2)
- Goh, Y.J., 2009. Genomic features of *Lactobacillus* species. *Front Biosci Volume*, 1362. <https://doi.org/10.2741/3313>
- Granato, D., Branco, G.F., Nazzaro, F., Cruz, A.G., Faria, J.A.F., 2010. Functional Foods and Nondairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products. *Comp Rev Food Sci Food Safe* 9, 292–302. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00110.x>
- Gupta, V., Garg, R., 2009. PROBIOTICS. *Indian Journal of Medical Microbiology* 27, 202–209. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.53201>
- György T., 2022. Almalé fermentálhatóságának vizsgálata probiotikus *Lactobacillus* törzsekkel, Szakdolgozat, Budapest.
- Hammes, W., Hertel, C., 2009. Genus I. *Lactobacillus* Beijerinck, 1901. In: De Vos P, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer K-H, Whitman WB (eds) *Bergey's manual of systematic bacteriology*, vol 3, 2nd edn. Springer, Berlin, pp 465–510.
- Hammes, W., Vogel, R., 1995. The genus *Lactobacillus*. In: Wood BJB, Holzapfel WH (eds) *The genera of lactic acid bacteria*. Blackie Academic & Professional, London, pp 19–54.

- Hervik, A.K., Svihus, B., 2019. The Role of Fiber in Energy Balance. *Journal of Nutrition and Metabolism* 2019, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2019/4983657>
- Hibbing, M.E., Fuqua, C., Parsek, M.R., Peterson, S.B., 2010. Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nat Rev Microbiol* 8, 15–25. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2259>
- Homayouni Rad, A., Pourjafar, H., Mirzakhani, E., 2023. A comprehensive review of the application of probiotics and postbiotics in oral health. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 13, 1120995. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1120995>
- Ibrahim, S.A., Ayivi, R.D., Zimmerman, T., Siddiqui, S.A., Altemimi, A.B., Fidan, H., Esatbeyoglu, T., Bakhshayesh, R.V., 2021. Lactic Acid Bacteria as Antimicrobial Agents: Food Safety and Microbial Food Spoilage Prevention. *Foods* 10, 3131. <https://doi.org/10.3390/foods10123131>
- Kechagia, M., Basoulis, D., Konstantopoulou, S., Dimitriadi, D., Gyftopoulou, K., Skarmoutsou, N., Fakiri, E.M., 2013. Health Benefits of Probiotics: A Review. *ISRN Nutrition* 2013, 1–7. <https://doi.org/10.5402/2013/481651>
- Kilin Á., 2018. Probiotikus *Lactobacillus* törzsek metabolikus aktivitásának tanulmányozása, Diplomamunka, Budapest.
- Kok, J., Johansen, E., Kleerebezem, M., Teusink, B., 2014. Lactic Acid Bacteria: embarking on 30 more years of research. *Microb Cell Fact* 13, 11. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-S1-I1>
- Konings, W., 2000. Lactic acid bacteria: the bugs of the new millennium. *Current Opinion in Microbiology* 3, 276–282. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(00\)00089-8](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(00)00089-8)
- Kumar, P., Sethi, S., Sharma, R.R., Singh, S., Saha, S., Sharma, V.K., Verma, M.K., Sharma, S.K., 2018. Nutritional characterization of apple as a function of genotype. *J Food Sci Technol* 55, 2729–2738. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3195-x>
- Kung, H.-F., Lee, Y.-C., Huang, Y.-L., Huang, Y.-R., Su, Y.-C., Tsai, Y.-H., 2017. Degradation of Histamine by *Lactobacillus plantarum* Isolated from Miso Products. *Journal of Food Protection* 80, 1682–1688. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-135>
- Lara-Espinoza, C., Carvajal-Millán, E., Balandrán-Quintana, R., López-Franco, Y., Rascón-Chu, A., 2018. Pectin and Pectin-Based Composite Materials: Beyond Food Texture. *Molecules* 23, 942. <https://doi.org/10.3390/molecules23040942>
- Leal-Sánchez, M.V., Ruiz-Barba, J.L., Sánchez, A.H., Rejano, L., Jiménez-Díaz, R., Garrido, A., 2003. Fermentation profile and optimization of green olive fermentation using *Lactobacillus plantarum* LPCO10 as a starter culture. *Food Microbiology* 20, 421–430. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(02\)00147-8](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(02)00147-8)
- Lucas, A., Cole, T.J., 1990. Breast milk and neonatal necrotising enterocolitis. *The Lancet* 336, 1519–1523. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(90\)93304-8](https://doi.org/10.1016/0140-6736(90)93304-8)
- Luckow, T., Delahunty, C., 2004. Which juice is ‘healthier’? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. *Food Quality and Preference* 15, 751–759. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2003.12.007>

- Luckow, T., Sheehan, V., Fitzgerald, G., Delahunty, C., 2006. Exposure, health information and flavour-masking strategies for improving the sensory quality of probiotic juice. *Appetite* 47, 315–323. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2006.04.006>
- Maintz, L., Novak, N., 2007. Histamine and histamine intolerance. *The American Journal of Clinical Nutrition* 85, 1185–1196. <https://doi.org/10.1093/ajcn/85.5.1185>
- Maldonado, A., Ruiz-Barba, J.L., Jiménez-Díaz, R., 2004. Production of plantaricin NC8 by *Lactobacillus plantarum* NC8 is induced in the presence of different types of gram-positive bacteria. *Archives of Microbiology* 181, 8–16. <https://doi.org/10.1007/s00203-003-0606-8>
- Marrero, S.C., Martínez-Rodríguez, A., Pérez, S.E.M., Moya, S.P., 2019. New Trends and Applications in Fermented Beverages, in: *Fermented Beverages*. Elsevier, pp. 31–66. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815271-3.00002-6>
- Marteau, P., Cuillerier, E., Meance, S., Gerhardt, M.F., Myara, A., Bouvier, M., Bouley, C., Tondou, F., Bommelaer, G., Grimaud, J.C., 2002. *Bifidobacterium animalis* strain DN-173 010 shortens the colonic transit time in healthy women: a double-blind, randomized, controlled study. *Aliment Pharmacol Ther* 16, 587–593. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2036.2002.01188.x>
- Mohammadi, R., Sohrabvandi, S., Mohammad Mortazavian, A., 2012. The starter culture characteristics of probiotic microorganisms in fermented milks. *Engineering in Life Sciences* 12, 399–409. <https://doi.org/10.1002/elsc.201100125>
- O'May, G.A., Macfarlane, G.T., 2006. Health Claims Associated with Probiotics, in: Tamime, A. (Ed.), *Probiotic Dairy Products*. Wiley, pp. 138–166. <https://doi.org/10.1002/9780470995785.ch7>
- Panghal, A., Janghu, S., Virkar, K., Gat, Y., Kumar, V., Chhikara, N., 2018. Potential non-dairy probiotic products – A healthy approach. *Food Bioscience* 21, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.12.003>
- Pessione, E., Mazzoli, R., Giuffrida, M.G., Lamberti, C., Garcia-Moruno, E., Barelli, C., Conti, A., Giunta, C., 2005. A proteomic approach to studying biogenic amine producing lactic acid bacteria. *Proteomics* 5, 687–698. <https://doi.org/10.1002/pmic.200401116>
- Prosser, J.I., Bohannon, B.J.M., Curtis, T.P., Ellis, R.J., Firestone, M.K., Freckleton, R.P., Green, J.L., Green, L.E., Killham, K., Lennon, J.J., Osborn, A.M., Solan, M., Van Der Gast, C.J., Young, J.P.W., 2007. The role of ecological theory in microbial ecology. *Nat Rev Microbiol* 5, 384–392. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1643>
- Quinto, E.J., Jiménez, P., Caro, I., Tejero, J., Mateo, J., Girbés, T., 2014. Probiotic Lactic Acid Bacteria: A Review. *FNS* 05, 1765–1775. <https://doi.org/10.4236/fns.2014.518190>
- Reis, J.A., Paula, A.T., Casarotti, S.N., Penna, A.L.B., 2012. Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications. *Food Eng Rev* 4, 124–140. <https://doi.org/10.1007/s12393-012-9051-2>
- Ribeiro, J.A., Dos Santos Pereira, E., De Oliveira Raphaelli, C., Radünz, M., Camargo, T.M., Da Rocha Concenço, F.I.G., Cantillano, R.F.F., Fiorentini, Â.M., Nora, L., 2022. Application of prebiotics in apple products and potential health benefits. *J Food Sci Technol* 59, 1249–1262. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05062-z>

- Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J., Mattila-Sandholm, T., 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology* 84, 197–215. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(00\)00375-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(00)00375-8)
- Salveti, E., Torriani, S., Felis, G.E., 2012. The Genus *Lactobacillus*: A Taxonomic Update. *Probiotics & Antimicro. Prot.* 4, 217–226. <https://doi.org/10.1007/s12602-012-9117-8>
- Samtiya, M., Aluko, R.E., Puniya, A.K., Dhewa, T., 2021. Enhancing Micronutrients Bioavailability through Fermentation of Plant-Based Foods: A Concise Review. *Fermentation* 7, 63. <https://doi.org/10.3390/fermentation7020063>
- San Mauro Martin, I., Brachero, S., Garicano Vilar, E., 2016. Histamine intolerance and dietary management: A complete review. *Allergologia et Immunopathologia* 44, 475–483. <https://doi.org/10.1016/j.aller.2016.04.015>
- Schillinger, U., Lücke, F.-K., 1987. Identification of *lactobacilli* from meat and meat products. *Food Microbiology* 4, 199–208. [https://doi.org/10.1016/0740-0020\(87\)90002-5](https://doi.org/10.1016/0740-0020(87)90002-5)
- Schnedl, W.J., Lackner, S., Enko, D., Schenk, M., Holasek, S.J., Mangge, H., 2019. Evaluation of symptoms and symptom combinations in histamine intolerance. *Intest Res* 17, 427–433. <https://doi.org/10.5217/ir.2018.00152>
- Shah, N.P., Dave, R., 2002. Antimicrobial Substances Including Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria. *Bioscience Microflora* 21, 217–223. <https://doi.org/10.12938/bifidus1996.21.217>
- Shulpekova, Y.O., Nechaev, V.M., Popova, I.R., Deeva, T.A., Kopylov, A.T., Malsagova, K.A., Kaysheva, A.L., Ivashkin, V.T., 2021. Food Intolerance: The Role of Histamine. *Nutrients* 13, 3207. <https://doi.org/10.3390/nu13093207>
- Sieuwert, S., Bron, P.A., Smid, E.J., 2018. Mutually stimulating interactions between lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* in sourdough fermentation. *LWT* 90, 201–206. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.022>
- Slattey, C., Cotter, P.D., W. O'Toole, P., 2019. Analysis of Health Benefits Conferred by *Lactobacillus* Species from Kefir. *Nutrients* 11, 1252. <https://doi.org/10.3390/nu11061252>
- Teuber, M., 2001. Lactic Acid Bacteria, in: Rehm, H. -J., Reed, G. (Eds.), *Biotechnology Set*. Wiley, pp. 325–366. <https://doi.org/10.1002/9783527620999.ch10>
- Vallée Marcotte, B., Verheyde, M., Pomerleau, S., Doyen, A., Couillard, C., 2022. Health Benefits of Apple Juice Consumption: A Review of Interventional Trials on Humans. *Nutrients* 14, 821. <https://doi.org/10.3390/nu14040821>
- Vasudha, S., Mishra, H.N., 2013. Non dairy probiotic beverages. *International Food Research Journal* 20, 7–15.
- Visciano, P., Schirone, M., 2022. Update on Biogenic Amines in Fermented and Non-Fermented Beverages. *Foods* 11, 353. <https://doi.org/10.3390/foods11030353>
- Wade, W.G., Kononen, E., 2011. *Propionibacterium*, *Lactobacillus*, *Actinomyces* , and Other Non-Spore-Forming Anaerobic Gram-Positive Rods, in: Versalovic, J., Carroll, K.C., Funke, G., Jorgensen, J.H., Landry, M.L., Warnock, D.W. (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology*. Wiley, pp. 817–833. <https://doi.org/10.1128/9781555816728.ch49>

Wee, Y.-J., Kim, J.-N., Ryu, H.-W., 2006. Biotechnological Production of Lactic Acid and Its Recent Applications. Food Technology and Biotechnology 44, 163–172.

Wójcik, W., Łukasiewicz, M., Puppel, K., 2021. Biogenic amines: formation, action and toxicity – a review. J Sci Food Agric 101, 2634–2640. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10928>

Wu, C., Li, T., Qi, J., Jiang, T., Xu, H., Lei, H., 2020. Effects of lactic acid fermentation-based biotransformation on phenolic profiles, antioxidant capacity and flavor volatiles of apple juice. LWT 122, 109064. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109064>

Yang, X., Zhang, Y., Zhou, J., Dong, H., Bai, X., Liu, W., Gu, Z., 2024. Pathogenicity, infection process, physiological and biochemical effects of *Metarhizium rileyi* against *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. Egypt J Biol Pest Control 34, 19. <https://doi.org/10.1186/s41938-024-00781-9>

Zalán, Z., Hudáček, J., Štětina, J., Chumchalová, J., Halász, A., 2010. Production of organic acids by *Lactobacillus* strains in three different media. Eur Food Res Technol 230, 395–404. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1179-9>

Internetes források:

http1: www.webbeteg.hu/keresok/tapanyagtartalom/8/

http2: www.webbeteg.hu/keresok/tapanyagtartalom/11/

8. Ábrák és táblázatok jegyzéke

1. ábra: A hisztamin kromatogram területe a bemért hisztamin mennyiségének függvényében	24
2. ábra A különböző vegyes kultúrákkal fermentált almalevek pH értékének alakulása 24 órás fermentációt követve	26
3. ábra: A vegyes kultúrák kezdeti sejtszáma almalében, illetve 24 órás fermentációt követően.....	27
4. ábra: Fermentált almalé antimikrobás hatása <i>Escherichia coli</i> O157:H7 ellen - <i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>Lactobacillus brevis</i> 10:1 arányú beállítás	30
5. ábra: Fermentált almalé antimikrobás hatása <i>Listeria innocua</i> ellen - <i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>Lactobacillus brevis</i> 1:1 arányú beállítás	31
6. ábra: Az almalevek pH változása <i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>Lactobacillus brevis</i> 1:1, illetve <i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>Lactobacillus brevis</i> + <i>Lactobacillus plantarum</i> 10:1:10 arányban történő fermentációja során	33
7. ábra: Fermentált almalé antimikrobás hatása <i>Enterococcus faecalis</i> ellen a fermentáció különböző időpontjaiban - <i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>Lactobacillus brevis</i> 1:1 arányú beállítás.....	36
8. ábra: Fermentált almalé antimikrobás hatása <i>Enterococcus faecalis</i> ellen a fermentáció különböző időpontjaiban – <i>Lactobacillus acidophilus</i> + <i>Lactobacillus brevis</i> + <i>Lactobacillus plantarum</i> 10:1:10 arányú beállítás	36
1. táblázat: <i>Lactobacillus</i> -ok előfordulása különböző élelmiszerekben	8
2. táblázat: Az alma és almalé átlagos tápanyagtartalma 100 g tömegre nézve.....	15
3. táblázat: Felhasznált <i>Lactobacillus</i> törzsek.....	18
4. táblázat: Felhasznált patogén mikroorganizmusok	18
5. táblázat: MRS tápleves összetevői.....	19
6. táblázat: TSB tápleves összetevői	20
7. táblázat: <i>Lactobacillus</i> törzsek vegyes kultúrájának aránya almalében	21
8. táblázat: A fermentáció 24. órájában vett minták tejsavtartalma almalében.....	26
9. táblázat: <i>Lactobacillus acidophilus</i> és <i>Lactobacillus brevis</i> törzsekkel 10:1 arányban fermentált és különböző mennyiségekben liofilizált almalé minták gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben	29
10. táblázat: <i>Lactobacillus acidophilus</i> és <i>Lactobacillus brevis</i> törzsekkel 1:1 arányban fermentált és különböző mennyiségekben liofilizált almalé minták gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben	30
11. táblázat: <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> és <i>Lactobacillus plantarum</i> törzsekkel 1:1:1 arányban fermentált almalé, illetve különböző mennyiségekben liofilizált fermentlé minták gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben	31
12. táblázat: <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> és <i>Lactobacillus plantarum</i> törzsekkel 10:1:10 arányban fermentált almalé, illetve különböző mennyiségekben liofilizált fermentlé minták gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben	32
13. táblázat: <i>Lactobacillus acidophilus</i> és <i>Lactobacillus brevis</i> törzsekkel 1:1 arányban fermentált, különböző időpontokban vett, majd liofilizált almalé minták gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben	34
14. táblázat: <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> és <i>Lactobacillus plantarum</i> törzsekkel 10:1:10 arányban fermentált, különböző időpontokban vett, majd liofilizált almalé minták gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben	35

15. táblázat: <i>Lactobacillus acidophilus</i> és <i>Lactobacillus brevis</i> törzseket 1:1 arányban, valamint elölt kórokozókat tartalmazó 16 órás fermentált almalé gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben	37
16. táblázat: <i>Lactobacillus acidophilus</i> és <i>Lactobacillus brevis</i> törzseket 1:1 arányban, valamint elölt kórokozókat tartalmazó 20 órás fermentált almalé gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben	38
17. táblázat: <i>Lactobacillus acidophilus</i> és <i>Lactobacillus brevis</i> törzseket 1:1 arányban, valamint elölt kórokozókat tartalmazó 24 órás fermentált almalé gátló hatásának vizsgálata kórokozó baktérium fajokkal szemben	39
18. táblázat: A fermentáció 24. órájában vett minták tejsavtartalma	40
19. táblázat: A négy vegyes kultúra hisztamin termelése almalé fermentáció során az idő függvényében	41
20. táblázat: Az elölt kórokozókat tartalmazó beállítás hisztamin termelése almalé fermentáció során az idő függvényében.....	41

Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Bujna Erika egyetemi docensnek, aki idejét, türelmét nem kímélve nyújtott nekem segítséget annak érdekében, hogy dolgozatom megszülethessen. Hálás vagyok, amiért folyamatosan a rendelkezésemre állt, széleskörű szakmai ismereteivel, tapasztalataival támogatta munkámat.

Köszönettel tartozom Dr. Nguyen Duc Quang egyetemi tanárnak, aki segítségével hozzájárult mérésem megvalósításához.

Köszönöm segítségét a Biomérnök és Erjedéssipari Technológia Tanszék munkatársainak is.

Külön köszönettel tartozom Édesanyámnak, Nagymamámnak, valamint Páromnak és családjának, akik mindvégig támogattak és bíztattak.

NYILATKOZAT

a szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve:	Mocsári Evelin Lizetta
A Hallgató Neptun kódja:	JDQDPE
A dolgozat címe:	Tejsavbaktériumokkal fermentált almalé antimikrobás hatásának vizsgálata
A megjelenés éve:	2024
A konzulens intézetének neve:	Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
A konzulens tanszékének a neve:	Biomérnök és Erjedéssipari Technológia Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott szakdolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítotam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

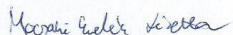
Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem MATER Hallgatói Dolgozatok repozitóriumba. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után

nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem MATER Hallgatói Dolgozatok repozitóriumban.

Kelt: Budapest, 2024. október 31.


Hallgató aláírása

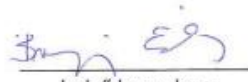
NYILATKOZAT

Mocsári Evelin Lizetta (Neptun azonosító: JDQDPE) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A szakdolgozatot a záróvizsgán történő védelemre javaslom / nem javaslom¹.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem²

Kelt: Budapest, 2024. október 31.


belső konzulens

¹ A megfelelő aláhúzendő.

² A megfelelő aláhúzendő.