



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.

Tartalmi kivonat

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 tartósítószeret, 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 kultúrák 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

menyiségeit. 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 nagyobbat. 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 *Latobacillus 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.