

SZAKDOLGOZAT

Szabó Csaba

**Budapest
2025**



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Budai Campus
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Biomérnöki alapképzési szak

**FEHÉRJEHIDROLIZÁTUMOK HATÁSA PROBIOTIKUS
MIKRÓBÁKRA**

Belső konzulens: Dr. Bujna Erika
egyetemi docens
Dr. Nguyen Duc Quang
egyetemi tanár

**Belső konzulens
intézete/tanszéke:** Biomérnöki és Erjedésipari
Technológia Tanszék

Készítette: Szabó Csaba

Budapest
2025

Tartalom

1. Bevezetés és célkitűzések	3
2. Szakirodalmi áttekintés	5
2.1. Probiotikumok és prebiotikumok	5
2.2. Probiotikus törzsek fehérje-anyagcseréje.....	6
2.2.1. Proteolitikus enzimsziszterek diverzitása	7
2.3. Tejfehérje-hidrolizátumok és tejfehérje-koncentrátumok	9
2.3.1. A tejfehérje-koncentrátum jellemzése	9
2.3.2. Fehérjehidrolizátumok bioaktív peptidjei	11
2.4. A <i>Lactobacillus</i> fermentáció funkcionális hatásai	14
2.4.1. Antimikrobiális tulajdonságok.....	14
2.4.2. Antioxidáns tulajdonságok.....	16
2.4.3. Antihipertenzív hatás	18
2.4.4. Koleszterincsökkentő hatás.....	18
3.1. Felhasznált anyagok	20
3.1.1. Mikroorganizmus törzsek	20
3.1.2. Tápközegek, oldatok.....	21
3.2. Általános vizsgálati módszerek.....	23
3.2.1. Oltókultúrák előkészítése	24
3.2.2 MPC fermentáció	24
3.2.3. Mintavételezés.....	24
3.2.4. Élősejtszám meghatározása.....	24
3.2.5 Növekedési dinamika vizsgálata	25
3.2.6. pH-mérés	25
3.2.7. Összes fenolos tartalom meghatározása	26
3.2.8. HPLC analízis	27
3.2.9. Antimikrobiális hatás vizsgálata	28
3.3. Statisztikai elemzés	29
4. Eredmények és kiértékelése	30
4.1. MPC koncentrációk hatása probiotikumok szaporodására és metabolit termelésére ..	30
4.1.2. pH-változás a fermentáció során	32
4.1.3. Szerves savak termelése	34

4.2. Növekedési dinamika vizsgálata optikai denzitás méréssel.....	35
4.3. Funkcionális tulajdonságok vizsgálata <i>L. acidophilus</i> LA-5 törzs MPC fermentációja során	39
4.3.1. Élősejtszám alakulása	39
4.3.2. Glükózkoncentráció alakulása <i>L. acidophilus</i> LA-5 fermentáció során	41
4.3.3. pH alakulása a <i>L. acidophilus</i> LA-5 fermentáció során.....	43
4.3.4. Antioxidáns aktivitás eredményei és kiértékelése	44
4.4. Antimikrobiális aktivitás alakulása.....	46
5. Következtetések és javaslatok	49
6. Összefoglalás.....	51
7. Irodalomjegyzék	52

1. Bevezetés és célkitűzések

Az utóbbi évtizedekben a táplálkozástudomány és a fogyasztói tudatosság paradigmaváltáson ment keresztül, melynek középpontjában az egészségmegőrzés és a betegségek megelőzése áll. Ebben a kontextusban kiemelt figyelmet kaptak a funkcionális élelmiszerek, amelyek a hagyományos tápértékükön túlmenően bizonyítottan jótékony hatást gyakorolnak a szervezet egy vagy több célfunkciójára (Nasri, 2017). Ezen élelmiszerek egyik legdinamikusabban fejlődő szegmensét a probiotikumokat tartalmazó termékek képezik. A probiotikumok, amelyeket a Nemzetközi Probiotikum és Prebiotikum Tudományos Szövetség "megfelelő mennyiségben fogyasztva a gazdaszervezet egészségére jótékony hatást kifejtő élő mikroorganizmusokként" definiál (Hill et al., 2014), kulcsszerepet játszanak a bélmikrobiom egyensúlyának fenntartásában, az immunrendszer modulálásában és a patogén mikrobákkal szembeni védekezésben (Patel, 2015). A leggyakrabban alkalmazott és legszélesebb körben kutatott probiotikus nemzetségek közé a *Lactobacillus* és a *Bifidobacterium* fajok tartoznak, amelyek számos fermentált tejtermék és táplálékkiegészítő alapját képezik (Patel, 2015; IPA-Europe, 2017).

A probiotikus mikroorganizmusok hatékonysága és túlélése a gasztrointesztinális traktusban nagymértékben függ a környezeti feltételektől és a rendelkezésre álló tápanyagoktól. E felismerés vezetett a prebiotikumok koncepciójának kidolgozásához, amelyeket a tudományos konszenzus olyan szubsztrátokként határoz meg, amelyeket a gazdaszervezet mikroorganizmusai szelektíven hasznosítanak, ezáltal egészségügyi előnyt biztosítva a probiotikus törzseknek (Gao et al., 2024). Míg a klasszikus prebiotikumok jellemzően nem emészthető szénhidrátok, mint például a frukto-oligoszacharidok (FOS) és az inulin, a legújabb kutatások rámutattak, hogy más makromolekulák, így a fehérjék és a belőlük származó származékok is betölthetnek prebiotikus szerepet (Nasri et al., 2022).

A fehérjehidrolizátumok – azaz enzimatis vagy mikrobiális úton előemésztett fehérjék – különösen ígéretes prebiotikus potenciállal rendelkeznek. A hidrolízis során a nagy, komplex fehérjemolekulák kisebb peptidekre és szabad aminosavakra bomlanak, amelyek könnyebben hozzáférhető és hasznosítható nitrogénforrást jelentenek számos probiotikus törzs számára. Ez különösen fontos az auxotróf tejsavbaktériumok, például a *Lactobacillus* fajok esetében, amelyek növekedésükhöz esszenciális aminosavak külső forrására szorulnak (Meng et al., 2021). A hidrolízis során továbbá olyan bioaktív peptidek szabadulhatnak fel, amelyek a tápláló hatáson túl egyéb funkcionális tulajdonságokkal is bírnak, mint például antioxidáns, antimikrobiális, vagy angiotenzin-konvertáló enzim (ACE) gátló aktivitás, ezáltal növelve a

végtermék hozzáadott értékét (Nasri, 2017; Guo et al., 2023). A tejfehérjék, különösen a kazein és a tejsavófehérje frakciók, kiváló forrásai az ilyen bioaktív peptideknek (Mohanty et al., 2016). A tejfehérje-koncentrátum (MPC) egy iparilag is releváns alapanyag, amely ultraszűréssel készül, megőrizve a tejfehérjék természetes, 80:20 arányú kazein-tejsavófehérje összetételét, és amely hatékonyan alkalmazható fermentált tejtermékek fehérjetartalmának növelésére (Meena et al., 2017; U.S. Dairy Export Council, 2014).

Bár a fehérjehidrolizátumok probiotikum-serkentő potenciálja széles körben elfogadott, a szakirodalomban jelentős kutatási rés azonosítható a hatás törzsspecifikusságának tekintetében. Az egyes probiotikus törzsek jelentős mértékben eltérhetnek proteolitikus enzimrendszerük, peptid-transzport mechanizmusaik és specifikus aminosav-igényük tekintetében (Meng et al., 2021). Ebből következően egy adott fehérjehidrolizátum, mint például az MPC, eltérő, akár ellentétes hatást is kiválthat különböző probiotikus mikroorganizmusokból. Míg egy *Lactobacillus* törzs számára optimális tápanyagforrást jelenthet, egy *Bifidobacterium* törzs növekedését gátolhatja például a nagyobb ozmotikus nyomás vagy a felhalmozódó peptidek toxikus hatása (Sibanda et al., 2024). Kevés összehasonlító tanulmány áll rendelkezésre, amely egy adott, ipari körülmények között előállított MPC hatását vizsgálná párhuzamosan több, eltérő nemzetségbe tartozó probiotikus törzsön. Ennek megértése elengedhetetlen a hatékony, célzott szinbiotikus (probiotikumot és prebiotikumot is tartalmazó) funkcionális élelmiszerek fejlesztéséhez.

Jelen szakdolgozat célja, hogy részletesen feltárja egy kereskedelmi forgalomban kapható tejfehérje-koncentrátum hatását három, biotechnológiai szempontból releváns probiotikus baktériumtörzsre. A kutatás elsődleges célkitűzése volt:

- a *Lactobacillus acidophilus*, a *Lactobacillus plantarum* és a *Bifidobacterium longum* egyes törzsei növekedési és savtermelési képességeinek összehasonlítása különböző MPC-koncentrációk mellett;
- a legígéretesebbnek bizonyuló törzssel a fermentáció mélyebb analízise, a fermentáció során létrejövő funkcionális tulajdonságok vizsgálata;
- a fermentált közeg összes fenolos tartalmának és antioxidáns kapacitásának, valamint antimikrobiális hatásának meghatározása.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1. Probiotikumok és prebiotikumok

A probiotikumok definíciója a Nemzetközi Probiotikum és Prebiotikum Tudományos Szövetség (ISAPP) szerint „megfelelő mennyiségben fogyasztva a gazdaszervezet egészségére jótékony hatást kifejtő élő mikroorganizmusok” (Hill et al., 2014). Ez a meghatározás hangsúlyozza a dóziszfüggőséget és a tudományosan bizonyított egészségügyi előnyöket, megkülönböztetve a probiotikumokat a hagyományos fermentált élelmiszerektől. A probiotikus hatás kifejtéséhez általában legalább 10^6 – 10^8 TKE/g vagy TKE/ml koncentráció szükséges a végső termékben (IPA-Europe, 2017).

A leggyakrabban alkalmazott és legszélesebb körben kutatott probiotikus nemzetségek közé a *Lactobacillus* és a *Bifidobacterium* fajok tartoznak (Patel, 2015). A *Lactobacillus* nemzetség homofermentatív és heterofermentatív törzseket egyaránt magába foglal, amelyek különböznek anyagcsere útvonalaikban és fermentációs végtermékeikben. Míg a *Lactobacillus acidophilus* LA-5 törzs homofermentatív jellegéből adódóan elsősorban tejsavat termel nagy hatékonysággal (elméleti maximum közel 90%-a), addig a *Lactobacillus plantarum* 299v fakultatív heterofermentatív tulajdonságokat mutat, vagyis képes ecetsav, etanol és szén-dioxid termelésére is, ami diverzifikáltabb antimikrobiális spektrumot és eltérő aromaprofil eredményez (Meng et al., 2021; Savadogo et al., 2006).

A *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* és *L. casei* törzsek széles körben alkalmazottak kereskedelmi termékekben, míg a *Bifidobacterium longum*, *B. lactis* és *B. infantis* fajok különösen a csecsemő- és gyermekkori bélflóra egyensúlyának fenntartásában játszanak kulcsszerepet (Patel, 2015; Sibanda et al., 2024).

A probiotikus mikroorganizmusok egészségügyi hatásai többértűek. Elsődlegesen a bélmikrobióta összetételének modulálásán keresztül fejtik ki hatásukat, kiszorítva a patogén mikroorganizmusokat, erősítve a bélhám barrier funkcióját és befolyásolva az immunrendszer működését. A probiotikumok antimikrobiális vegyületeket termelnek, ideértve a szerves savakat (tejsav, ecetsav, propionsav), hidrogén-peroxidot és bakteriocineket, amelyek gátolják a kórokozó baktériumok szaporodását (Savadogo et al., 2006; Patel, 2015).

A prebiotikumok olyan komponensek, amelyek szelektíven támogatják a jótékony hatású mikroorganizmusok szaporodását, ezáltal előnyöket biztosítva a gazdaszervezet egészségére (Gao et al., 2024). A klasszikus prebiotikumok közé tartoznak a nememészthető oligoszacharidok, köztük a frukto-oligoszacharidok (FOS), a galakto-oligoszacharidok (GOS),

valamint az inulin és a laktulóz. Ezek a vegyületek ellenállnak a gyomor-bél traktus felső szakaszainak emésztő hatásának, és változatlan formában jutnak el a vastagbélbe, ahol a hasznos baktériumok számára fermentálható szubsztrátumként szolgálnak.

Az utóbbi évtized kutatásai azonban rámutattak arra, hogy a prebiotikus hatás nem korlátozódik kizárólag a szénhidrát alapú komponensekre. A fehérjehidrolizátumok és bioaktív peptidok prebiotikus potenciálja egyre nagyobb figyelmet kap (Nasri et al., 2022; Gao et al., 2024). Gao és munkatársai (2024) átfogó tanulmányukban kiemelik, hogy bizonyos fehérjehidrolizátumok szelektíven stimulálják a probiotikus baktériumok növekedését, miközben gátolják a patogén mikroorganizmusok szaporodását. Ez a hatás részben a hidrolizátumokban található specifikus aminosavak és dipeptidek prebiotikus tulajdonságainak köszönhető (Nasri et al., 2022).

A szinbiotikumok olyan kombinált készítmények, amelyek probiotikumokat és prebiotikumokat egyaránt tartalmaznak, optimalizálva a hasznos mikroorganizmusok túlélését és funkcióját a bélrendszerben. Az ilyen termékek fejlesztése során kulcsfontosságú a megfelelő prebiotikus komponens kiválasztása, amely specifikusan támogatja a kívánt probiotikus törzs növekedését és metabolikus aktivitását. A szinbiotikus megközelítés különösen értékes a tejipari alkalmazásokban, ahol a fermentált termék mátrixa természetes védőhatást biztosít a probiotikus mikroorganizmusok számára (Swanson et al., 2020).

A probiotikumok és prebiotikumok alkalmazásának tudományos alapjai folyamatosan bővülnek. A személyre szabott táplálkozás és a konkrét egészségügyi célokra szánt probiotikum fogyasztáshoz kapcsolódó kutatások rámutatnak arra, hogy az egyéni bélmikrobiom összetétele jelentősen befolyásolja a probiotikus és prebiotikus komponensek hatékonyságát (Patel, 2015). A precíziós probiotika olyan törzs- és szubsztrát-specifikus megközelítés, amely az egyéni mikrobiális profil és tápanyagigények alapján célzott probiotikus kezeléseket kínál, lehetővé téve az optimalizált és személyre szabott egészségügyi beavatkozást (Nasri et al., 2022; Min et al., 2024). Ez a felismerés új lehetőségeket nyit a törzsspecifikus és szubsztrát-optimalizált funkcionális élelmiszerek fejlesztésében, ahol a probiotikus kultúrák tápanyagigényének pontos ismerete alapvető jelentőségű a termék hatékonyságának biztosításában.

2.2. Probiotikus törzsek fehérje-anyagcseréje

A probiotikus mikroorganizmusok fehérje-anyagcseréje rendkívül összetett és törzsfüggő folyamat, amely alapvetően meghatározza a mikroorganizmusok növekedési teljesítményét, túlélőképességét és funkcionális tulajdonságait. Az egyes probiotikus törzsek jelentős mértékben eltérhetnek proteolitikus enzimrendszerük, peptid-transzport mechanizmusaik és

specifikus aminosav-igényük tekintetében (Meng et al., 2021). A tejsavbaktériumok és bifidobaktériumok általában auxotróf jellegűek számos aminosav tekintetében, ami azt jelenti, hogy külső forrásból kell biztosítaniuk bizonyos esszenciális aminosavakat a megfelelő növekedéshez (Ummadi & Curic-Bawden, 2008). Ez különösen fontos a tejipari alkalmazásokban, ahol a tej természetes fehérjetartalma szolgál fő nitrogénforrásként a fermentáció során.

2.2.1. Proteolitikus enzimrendszerek diverzitása

A probiotikus baktériumok proteolitikus rendszerei komplex, többlépcsős folyamatokat irányítanak, amelyek sejt felszíni proteázokból, transzport rendszerekből és intracelluláris peptidázokból állnak (Savadogo et al., 2006; Nasri, 2017). A peptidtranszport mechanizmusok különösen fontosak a probiotikus alkalmazások szempontjából, mivel ezek határozzák meg, hogy egy adott törzs milyen hatékonysággal tudja hasznosítani a rendelkezésre álló nitrogénforrásokat, és milyen specifikus tápanyag-igényekkel rendelkezik.

A tejsavbaktériumoknál a legfontosabb peptidtranszport rendszerek közé tartoznak az oligopeptid transzporter (Opp) rendszerek, amelyek ATP-függő transzport mechanizmuson keresztül képesek 2–5 aminosav hosszúságú peptideket felvenni a sejtbe (Ummadi & Curic-Bawden, 2008). A peptidtranszport hatékonysága és az aminosavigény kielégítése közötti kapcsolat fontos, különös tekintettel a probiotikus termékek stabilitása és hatékonysága szempontjából. A megfelelően optimalizált tápanyag-ellátás nemcsak javítja a fermentációs teljesítményt, hanem növeli a probiotikus mikroorganizmusok túlélőképességét is a gyártás, tárolás és a gyomor-bél rendszeren való áthaladás során (Gao et al., 2024). Ez a kapcsolat kifejezetten olyan esetekben jelentős, amikor a probiotikus törzseket nem hagyományos tejipari környezetben alkalmazzák, hanem alternatív szubsztrátokban, például növényi alapú italokban vagy speciális táplálékkiegészítőkben, ahol a természetes aminosav-profil jelentősen eltérhet a tejétől.

Meng és munkatársai (2021) részletes vizsgálatai a *Lactobacillus acidophilus* LA-5 törzs esetében kimutatták, hogy ez a mikroorganizmus specifikus preferenciát mutat bizonyos dipeptidek és tripeptidek iránt, amelyek közvetlenül kapcsolódnak metabolikus útvonalaihoz és növekedési teljesítményéhez. A kutatás során megállapították, hogy az aszparagin-tartalmú peptidek felvétele kiemelkedően hatékony, ami összefügg a törzs aszparagin iránti fokozott igényével és az aszparagináz enzim aktivitásával. Ez a törzs auxotróf öt esszenciális aminosav (aszparagin, aszpartát, cisztein, leucin, metionin) tekintetében, ami azt jelenti, hogy ezeket az

aminosavakat külső forrásból kell biztosítani a megfelelő növekedéshez. A megfelelő aminosavbevitel 20-30%-kal csökkenti a fermentációs időt, és jelentősen javítja a biomassza-hozamot (Meng et al., 2021).

A *Bifidobacterium* nemzetség peptidtranszport mechanizmusai és aminosavigénye jelentősen eltér a *Lactobacillus* fajoktól, ami részben indokolja nagyobb érzékenységüket a környezeti stressztényezőkre és a tápanyag-összetétel változásaira. Sibanda és munkatársai (2024) kiemelik, hogy a bifidobaktériumok, különösen a *Bifidobacterium longum* és *B. lactis* törzsek, érzékenyebbek az ozmotikus stresszre, a pH-változásokra és a tápanyag hiányra. Ugyanakkor a *B. longum* és *B. lactis* törzsek között is jelentős metabolikus különbségek figyelhetők meg, például az oligoszacharidok hasznosításában. A *B. longum* általában komplexebb oligoszacharid-metabolizmussal rendelkezik, ami lehetővé teszi összetett prebiotikus vegyületek hatékony hasznosítását, míg a *B. lactis* jobban alkalmazkodott a tejipari környezethez. A tejipari fermentációk esetében a kezdeti semleges pH fokozatos savas tartományba történő eltolódása nemcsak az enzimaktivitást befolyásolja, hanem megváltoztatja a fehérjeszubsztrátok konformációját és hozzáférhetőségét is (Nasri et al., 2022). Ez a dinamikus változás különösen fontos a bioaktív peptidok képződése szempontjából, mivel bizonyos peptidok csak specifikus pH-tartományokban keletkeznek vagy maradnak stabilak (Guo et al., 2023). A bifidobaktériumok aminosavigénye általában szélesebb spektrumot ölel fel, és magában foglalja az elágazó szénláncú aminosavakat (valin, leucin, izoleucin), amelyek nemcsak strukturális szerepet játszanak, hanem energiaforrásként is szolgálhatnak stressz körülmények között (Sibanda et al., 2024).

Raveschot és munkatársai (2018) átfogó elemzése szerint a *Lactobacillus* törzsek proteolitikus rendszerei komplex genetikai szabályozás alatt állnak, amelyben a PrtP (sejtfelszíni proteináz), PrtH paralogok és intracelluláris peptidázok együttműködése biztosítja a fehérjék hatékony hidrolízisét és a bioaktív peptidok felszabadítását. Ez a többlépcsős proteolitikus mechanizmus nemcsak a tápanyag-hasznosítást javítja, hanem lehetővé teszi antimikrobiális, antioxidáns és immunmoduláló peptidok képződését is, amelyek hozzájárulnak a probiotikus törzsek funkcionális tulajdonságaihoz.

A különböző törzsek közötti metabolikus különbségek különösen szembetűnőek a másodlagos metabolitok termelése területén, mely magában foglalja az antimikrobiális vegyületek (bakteriocinek, szerves savak, hidrogén-peroxid) termelését, az antioxidáns aktivitású komponensek felszabadítását és a bioaktív peptidok specifikus spektrumának kialakítását is (Savadogo et al., 2006; Guo et al., 2023). A *Lactobacillus plantarum* 299v például ismert a

plantaricin nevű bakteriocin termeléséről, amely széles spektrumú antimikrobiális aktivitással rendelkezik (Savadogo et al., 2006), míg az LA-5 törzs inkább specifikus szerves savtermelésre specializálódott, amely elsősorban a pH-csökkentésén keresztül fejti ki antimikrobiális hatását (Meng et al., 2021). Ezek a különbségek gyakorlati jelentőséggel bírnak a termékfejlesztés és a célzott alkalmazások szempontjából.

2.3. Tejfehérje-hidrolizátumok és tejfehérje-koncentrátumok

A tejfehérje-koncentrátum (MPC) és a tejfehérje-hidrolizátumok az élelmiszeripari biotechnológia egyik legdinamikusabban fejlődő területét képviselik a funkcionális élelmiszerek és probiotikus termékek fejlesztésében. Ezek az anyagok a magas biológiai értékű fehérjeforrás mellett, prebiotikus tulajdonságokkal is rendelkezhetnek, ami értékessé teszi őket a szinbiotikus termékek kifejlesztésében (Gao et al., 2024). A tej természetes fehérjetartalmának koncentrációja és módosítása révén olyan termékek állíthatók elő, amelyek optimalizált tápanyag-profilal rendelkeznek a probiotikus mikroorganizmusok számára, miközben bioaktív komponensekkel is gazdagítják a végső terméket.

2.3.1. A tejfehérje-koncentrátum jellemzése

A tejfehérje-koncentrátum olyan tejfehérje-készítmény, amelyet ultraszűrés és diaszűrés kombinált alkalmazásával állítanak elő zsírtalanított tejből, és amelynek fehérjetartalma a szárazanyag-tartalomra vonatkoztatva 42% és 85% között változik. Meena és munkatársai (2017) kutatása szerint az MPC gyártási technológiája alapvetően meghatározza a végső termék funkcionális tulajdonságait, oldhatóságát, és alkalmazhatóságát különböző élelmiszeripari folyamatokban. A gyártási folyamat során alkalmazott membrántechnológia lehetővé teszi a tejfehérjék szelektív koncentrációját, miközben megőrzi azok natív szerkezetét és biológiai aktivitását (U.S. Dairy Export Council, 2014).

Az MPC összetétele komplex és változatos, amely elsősorban kazeinből (körülbelül 80%) és tejsavófehérjéből (körülbelül 20%) áll, tükrözve a tej természetes fehérje-profilját. Ez az arány azonban módosítható a gyártási paraméterek változtatásával, ami lehetőséget teremt specializált összetételű termékek előállítására specifikus alkalmazásokhoz (U.S. Dairy Export Council, 2014). A kazein komponens jelentős hatással bír a probiotikus fermentációkban, mivel gazdag esszenciális aminosavakban és szerves foszforban, amelyek gyakran limitálóak a probiotikus mikroorganizmusok növekedésében (Mohanty et al., 2016). A lizin, arginin, hisztidin és az elágazó szénláncú aminosavak (valin, leucin, izoleucin) koncentrációja az MPC-ben általában meghaladja a hagyományos tápközegekben található szinteket, ami javíthatja a probiotikus

törzsek növekedési teljesítményét és metabolikus aktivitását (Meena et al., 2017). A tejsavófehérje komponens, amely β -laktoglobulint, α -laktalbumint, immunoglobulinokat és laktoferrint tartalmaz, nemcsak tápanyagforrásként szolgál, hanem bioaktív tulajdonságokkal is rendelkezik, beleértve az antimikrobiális és immunmoduláló hatásokat (Mohanty et al., 2016).

Az MPC fizikai-kémiai tulajdonságai, kifejezetten az oldhatóság, viszkozitás és gélesedési képesség, nagy mértékben függenek a fehérjetartalomtól és a gyártási körülményektől. A tejfehérje-koncentrátum főbb típusait, jellemzőit és alkalmazási területeit az 1. táblázatban foglalja össze

1. táblázat: Tejfehérje-koncentrátum típusok főbb jellemzői és alkalmazási területei (U.S. Dairy Export Council, 2014; Meena et al., 2017 nyomán)

MPC típus	Fehérjetartalom (%)	Laktóz tartalom (%)	Oldhatóság	Főbb alkalmazási területek
MPC42	42	46	Jó	Sajt, joghurt, levesek, általános tejpor-helyettesítő
MPC56	56	30	Jó	Fagylalt, sajtgyártás, fermentált tejtermékek
MPC70	70	16–18	Közepes	Italok, táplálkozási termékek, fehérjestandardizálás
MPC80	80	5–6	Gyenge*	Sporttáplálkozás, gyógyászati táplálás, fehérjeszelet
MPC85	85	3–4	Gyenge*	Magas fehérjetartalmú italok, táplálék-kiegészítők
MPI (>90%)	>90	<3	Gyenge*	Speciális táplálkozási termékek, orvosi alkalmazások

*A „gyenge” oldhatóság a natív fehérjeszerkezet megőrzésének következménye, amely technológiai beavatkozással javítható

A magas fehérjetartalmú MPC készítmények (MPC80, MPC85) általában csökkent oldhatósággal rendelkeznek, ami kihívásokat jelent bizonyos alkalmazásokban, ugyanakkor előnyös lehet olyan esetekben, ahol lassú fehérjefelszabadulás vagy gélesedés kívánatos. Az U.S. Dairy Export Council (2014) technikai útmutatója szerint az MPC oldhatósága javítható megfelelő hidratálási technikákkal és pH-módosítással.

Az MPC gyártási technológiája és minősége befolyásolja a mikrobiális hozzáférhetőséget és a fermentációs kinetikát is. A hőkezelés intenzitása, a pH-beállítás és a tárolási körülmények mind hatással vannak a fehérjék denaturációs fokára és a proteolitikus enzimek számára való hozzáférhetőségére. Meena és munkatársai (2017) kutatásai kimutatták, hogy az enyhe hőkezelésnek alávetett MPC készítmények jobb szubsztrátumot biztosítanak a probiotikus mikroorganizmusok számára, mivel a fehérje szerkezet kevésbé denaturált és könnyebben hidrolizálható a bakteriális proteázokkal.

Yang és munkatársai (2025) legújabb kutatásai igazolták, hogy az MPC hatékonyan javítja a fermentáció során kialakuló fehérjéjél fizikai-kémiai tulajdonságait és emészthetőségét, ami a funkcionális élelmiszerek fejlesztésében jelentős szempont lehet. Pawlos és munkatársai (2024) kimutatták, hogy a tejfehérje-izolátumok kiegészítése nagy mértékben növeli a *Lactocaseibacillus casei* és *Limosilactobacillus johnsonii* törzsek túlélőképességét in vitro gyomor-bél rendszeri emésztés során, ami alátámasztja az MPC prebiotikus potenciálját probiotikus termékekben

2.3.2. Fehérjehidrolizátumok bioaktív peptidjei

A fehérjehidrolizátumok egyik legjelentősebb előnye, hogy a hidrolízis során olyan bioaktív peptidok szabadulnak fel, amelyek többféle élettani hatással rendelkeznek és jelentősen növelik a végső termék funkcionális értékét. Ezek a peptidok általában 2–20 aminosav hosszúságúak, és szerkezetüktől függően antimikrobiális, antioxidáns, antihipertenzív, immunmoduláló vagy egyéb bioaktív tulajdonságokat mutatnak. A tejfehérje-hidrolizátumok esetében a bioaktív peptidok képződése előnyös lehet, mivel a tej természetes fehérjeösszetétele gazdag forrása olyan prekursor molekuláknak, amelyek hidrolízis után aktiválódnak (Mohanty et al., 2016).

Az antimikrobiális peptidok különösen fontosak a probiotikus termékek esetén, mivel nemcsak a termék mikrobiológiai stabilitását javítják, hanem szinergikus hatást fejthetnek ki a probiotikus mikroorganizmusokkal együtt a patogén baktériumok ellen. Nasri (2017) kutatásai szerint a tejfehérje-eredetű antimikrobiális peptidok széleskörű aktivitást mutatnak mind Gram-pozitív, mind Gram-negatív baktériumokkal szemben, ami értékessé teszi őket

élelmiszerbiztonsági szempontjából. Ezt támasztják alá Pessione (2016) vizsgálatai is, amelyek kimutatták, hogy a tejsavbaktériumok proteolitikus rendszerei képesek kazein, albumin és globulin hidrolízisére, felszabadítva széles spektrumú antimikrobiális, antioxidáns és immunmoduláló peptideket.

A 2. táblázatban összefoglaltam a tejből származó főbb antimikrobiális peptideket és azok célpatogénjeit. Az adatok azt mutatják, hogy az isracidin szekvencia (α 1-kazein f1–23) elsősorban *Staphylococcus aureus* ellen hatékony, míg a laktoferricin B (laktoferrin f17–41) sokkal szélesebb spektrumú antimikrobiális aktivitást mutat, így az egyik legígéretesebb antimikrobiális peptid a tej proteinjeiből.

2. táblázat: Tejből származó antimikrobiális peptidek és célpatogénjeik (Mohanty et al., 2016 nyomán)

Tej peptidek	Proteáz	Célpatogének
Isracidin α 1-CN (f1–23)	Kimozin, kimotripszin	<i>Staphylococcus aureus</i>
Casecidin α 1 és κ -CN	Kimozin, kimotripszin, pepszin	<i>Staphylococcus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Diplococcus pneumoniae</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i>
Laktoferricin B, laktoferrin (f17–41)	Pepszin	<i>Bacillus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Listeria</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Proteus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Salmonella</i>
β -kazein származék peptidek	Tripszin, kimotripszin	<i>Enterococcus faecium</i> , <i>Bacillus megaterium</i>

A probiotikus fermentáció során keletkező bioaktív peptidek spektruma függ a felhasznált mikroorganizmus törzstől és annak proteolitikus enzimrendszerétől. Guo és munkatársai (2023) vizsgálata kimutatta, hogy a fermentáció során keletkező peptidek gyakran nagyobb bioaktivitást mutatnak, mint a tisztán enzimesen hidrolizált változatok, ami a mikrobiális metabolizmus komplexitásának és a többlépcsős peptidfelszabadulás előnyeinek köszönhető. Rosa és munkatársai (2023) összehasonlító vizsgálatai *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium* Bb-12 és *Lactocaseibacillus casei* törzsek alkalmazásával kimutatták, hogy az LA-5 törzs különösen hatékony antioxidáns és antidiabetikus peptidek termelésében tejsavó-tej fermentációk során. Fabbri és munkatársai (2024) elemzése szerint pedig a bioaktív

peptidtermelés optimalizálható a fermentációs paraméterek (pH, hőmérséklet, inkubációs idő) gondos beállításával, valamint a LAB törzs proteolitikus enzimrendszerének (CEP gének, PrtH paralogok) célzott kiválasztásával.

Az antioxidáns peptidek jelentősége szintén kiemelkedő, különösen a funkcionális élelmiszerek fejlesztésében, ahol a természetes antioxidáns kapacitás növelése lehet az egyik cél. Cruz-Casas és munkatársai (2021) kutatásai szerint a fermentációs úton előállított antioxidáns peptidek gyakran stabilabbak és hatékonyabbak, mint a szintetikus antioxidánsok, miközben természetes eredetük miatt fogyasztói elfogadottságuk is magasabb. Az antioxidáns peptidek általában hisztidin, tirozin, triptofán és cisztein aminosavakat tartalmaznak, amelyek reaktív oxigén gyökök megkötésére képesek.

Az immunmoduláló hatások általános egészségügyi szempontból fontosak. A *Lactobacillus* törzsek által termelt bioaktív peptidek képesek stimulálni a természetes immunválaszt, fokozva a szervezet ellenálló képességét a patogén mikroorganizmusokkal és környezeti stresszhatásokkal szemben. Mohanty és munkatársai (2016) kutatásai kimutatták, hogy bizonyos tejforrású peptidek, mint például a valin-glutaminsav-prolin-izoleucin-prolin-tirozin (VEPIPY) szekvencia, specifikus immunstimuláló hatással rendelkeznek, amely révén aktiválják a makrofágokat és fokozzák a citokinek termelését. Ez a hatás jelentős lehet az öregedő populáció vagy az immunhiányos betegek esetében, ahol az immunrendszer természetes gyengülése fokozott fogékonyságot jelent a fertőzésekkel szemben (Patel, 2015).

A bioaktív peptidek stabilitása és hasznosulása az egyik legfontosabb kérdés az alkalmazás szempontjából. Míg egyes peptidek ellenállóak a gyomor-bél traktus körülményeinek, mások gyorsan degradálódnak a peptidázok hatására. Ez a kihívás különös figyelmet igényel a probiotikus termékek fejlesztése során, ahol a peptidek védelmét biztosítani kell egészen a célhelyi felszívódásig (Guo et al., 2023). A mikrokapszulázás, a liposzómás formulációk és a probiotikus mátrix védőhatása mind olyan megközelítések, amelyek javíthatják a bioaktív peptidek stabilitását és bioelérhetőségét (Nasri et al., 2022). Malos és munkatársai (2025) legújabb kutatásai igazolták, hogy a probiotikumok prebiotikumokkal (például FOS, inulin) történő mikrokapszulázása jelentősen javítja a bioaktív peptidek és a probiotikus törzsek túlélését a gyomor-bél traktusban és fenntartja azok funkcionális aktivitását.

2.4. A *Lactobacillus* fermentáció funkcionális hatásai

A *Lactobacillus* nemzetség tagjai által végzett fermentációs folyamatok során keletkező funkcionális vegyületek és metabolitok széles spektruma teszi ezeket a mikroorganizmusokat értékké a funkcionális élelmiszerek és probiotikus termékek fejlesztésében. A fermentáció során nem csupán a tápközeg pH-jának csökkenése és a tejsav termelődése játszik szerepet, hanem komplex biokémiai útvonalak aktiválódnak, amelyek révén antimikrobiális, antioxidáns és egyéb bioaktív vegyületek keletkeznek. Ezek a funkcionális hatások túlmutatnak a hagyományos probiotikus előnyökön és olyan területekre is kiterjednek, mint az élelmiszer-tartósítás, az antioxidáns védelem és a specifikus egészségügyi hatások elérése (Savadogo et al., 2006).

2.4.1. Antimikrobiális tulajdonságok

A *Lactobacillus* törzsek antimikrobiális aktivitása többszörös mechanizmuson alapul, amely magában foglalja a primer metabolitok (szerves savak) termelését, a szekunder metabolitok (bakteriocinek, hidrogén-peroxid) szintézisét, valamint a fermentáció során keletkező bioaktív peptidok antimikrobiális hatását. Savadogo és munkatársai (2006) vizsgálata szerint ezek a mechanizmusok együttesen széles spektrumú antimikrobiális védelmet biztosítanak mind Gram-pozitív, mind Gram-negatív patogénekkel szemben.

A primer antimikrobiális hatás a tejsav és egyéb szerves savak (ecetsav, propionsav, vajsav) termelődésén alapul, amelyek csökkentik a környezet pH-ját és emellett közvetlen mikrobiálisan gátló hatást is kifejtenek. A tejsav hatékony a patogén baktériumok sejtmembrán integritásának károsításában, mivel a nem disszociált molekulák képesek áthatolni a sejtmembránon és az intracelluláris pH csökkentésével metabolikus zavarokat okozni (Patel, 2015). Ez a hatás a pH csökkenésével fokozódik, pH 4,0 alatti értékeknél a legerősebb, ahol a tejsav jelentős hányada nem disszociált formában van jelen, fokozva ezzel membránpenetrációs képességét (Savadogo et al., 2006).

A bakteriocinek, mint szekunder metabolitok, még specifikusabb antimikrobiális aktivitást mutatnak és gyakran törzs- vagy fajspecifikus hatásspektrummal rendelkeznek. A *Lactobacillus plantarum* 299v által termelt plantaricin például hatékonyan alkalmazható a *Listeria monocytogenes* és más Gram-pozitív patogénekkel szemben, míg más törzsek eltérő bakteriocin-profilokat mutatnak (Savadogo et al., 2006). Ezek a peptid természetű antimikrobiális vegyületek általában a célbaktériumok sejtmembrán permeabilitását

befolyásolják vagy specifikus membránreceptorokhoz kötődve fejtenek ki hatást, ami szelektív antimikrobiális aktivitást eredményez.

A hidrogén-peroxid termelése szintén jelentős antimikrobiális mechanizmus, főképp aerob vagy mikroaerofil körülmények között. Egyes *Lactobacillus* törzsek képesek nagy mennyiségű hidrogén-peroxidot termelni, amely erős oxidáló hatásával károsítja a patogén mikroorganizmusok sejtkomponenseit (Patel, 2015). Ez a hatás jól hatékonyságot mutat olyan esetekben, amikor a fermentált termék tárolása során oxigén jelenlétében kell biztosítani a mikrobiológiai stabilitást.

Az antimikrobiális aktivitás mértéke és spektruma nagy mértékben függ a fermentációs körülményektől, mint a tápközeg összetételétől, a pH-tól, a hőmérséklettől és az inkubációs időtől (Nasri et al., 2022). Az MPC jelenlétében végzett fermentációk során gyakran fokozott antimikrobiális aktivitás figyelhető meg, ami részben a gazdag aminosav-ellátás által lehetővé tett intenzívebb metabolikus aktivitásnak köszönhető (Gao et al., 2024).

A hosszú távú stabilitás szempontjából a fermentáció során keletkező természetes tartósítószeres jelentős előnyt jelentenek az eltarthatóság szempontjából. A szerves savak, bakteriocinek és egyéb antimikrobiális vegyületek kombinációja lehetővé teszi a mesterséges adalékanyagok csökkentését vagy teljes kiváltását, ami megfelel a fogyasztói igényeknek a természetes termékek iránt (Savado et al., 2006). A nagyobb elfogadás mellett további előnye a mesterséges adalékanyagok csökkentésének, hogy ezek negatívan befolyásolhatják a probiotikus mikroorganizmusok túlélését és aktivitását.

A 3. táblázatban összehasonlítottam a különböző fehérjeforrásokból származó bioaktív peptidek funkcionális tulajdonságait. Az adatok alapján látható, hogy a tejforrású bioaktív peptidek változatos spektrumú bioaktivitással rendelkeznek, beleértve az antihipertenzív (pl. VPP, IPP), antioxidáns (pl. EMPFPK, YFYPE) és antimikrobiális (pl. VKEAMAPK) hatásokat is. A táblázatban szereplő tengeri, növényi, illetve hús- és tojásforrású peptidek szintén fontos bioaktív funkciókat töltenek be, azonban a tejfehérje-hidrolizátumok előnye, hogy széles spektrumú bioaktivitás mellett kiváló biohasznosulással és toxikológiai biztonsággal rendelkeznek (Mohanty et al., 2016; Guo et al., 2023).

3. táblázat: Különböző fehérjeforrásokból származó bioaktív peptidek funkcionális tulajdonságai

(Saját összeállítás Kashung & Karuthapandian, 2025 nyomán)

Peptid forrás	Peptid szekvencia	Bioaktivitás	Példa a hatásra
Tejforrás	VPP, IPP	Antihipertenzív	ACE-gátlás
Tejforrás	EMPFPK, YFYPE	Antioxidáns	DPPH radikál megkötés
Tejforrás	VKEAMAPK	Antimikrobiális	<i>S. aureus</i> gátlás
Tengeri forrás	VRK	ACE-gátló	ACE-gátlás
Tengeri forrás	HFGBPFH	Antioxidáns	DPPH/ABTS radikál megkötés
Növényi forrás	LAYLQYTFETR	Antioxidáns	Lipid-peroxidáció gátlása
Növényi forrás	FVNPEAGS	Antihipertenzív	ACE-gátlás
Hús/tojás forrás	SAGNPN, GLAGA	Antioxidáns	DPPH radikál megkötés
Hús/tojás forrás	RVPSLM	Antidiabetikus	DPP-IV gátlás

2.4.2. Antioxidáns tulajdonságok

A *Lactobacillus* fermentáció során keletkező antioxidáns vegyületek komplexe jelentős mértékben hozzájárul a fermentált termékek egészségügyi hatásaihoz és stabilitásához. Zhao és munkatársai (2021) kiterjedt metaanalízise kimutatta, hogy a fermentációs folyamatok során a már jelen lévő antioxidáns komponensek koncentrációja nő, valamint új bioaktív vegyületek is keletkeznek, amelyek szinergikus antioxidáns hatást fejtenek ki. A fermentáció során keletkező peptidek antioxidáns aktivitása gyakran meghaladja a kiindulási fehérje antioxidáns kapacitását, ami a peptidek kisebb molekulaméretének és jobb biohasznosulásának köszönhető.

A *Lactobacillus* törzsek proteolitikus aktivitása révén olyan peptidek szabadulnak fel, amelyek antioxidáns hatású aminosavakat — hisztidin, tirozin, triptofán, cisztein — tartalmaznak és különböző mechanizmusok révén képesek hatást kifejteni. A hisztidin tartalmú peptidek hatékonyak a fémes ionok kelátképzésében, megakadályozva ezzel a Fenton-reakciót és a hidroxil gyökök képződését. A tirozin és triptofán tartalmú peptidek elsősorban elektrondonor mechanizmuson keresztül fejtenek ki hatást, míg a cisztein tartalmú peptidek szulfhidril csoportjuk révén közvetlenül reakcióba lépnek a reaktív oxigén gyökökkel (Guo et al., 2023).

A tejfehérjék fermentációja során keletkező antioxidáns peptidek különösen hatékonynak bizonyulnak a DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) és ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-szulfonsav)) gyökök semlegesítésében, amelyek a leggyakrabban alkalmazott *in vitro* antioxidáns tesztek alapjai (Cruz-Casas et al., 2021). Az antioxidáns potencia mérésére az IC_{50} érték (inhibitory concentration 50%) szolgál, amely azt fejezi ki, hogy az adott anyag milyen minimális koncentrációja szükséges ahhoz, hogy az adott gyök (pl. DPPH vagy ABTS) 50%-ában gátolja az antioxidáns aktivitást – alacsonyabb IC_{50} érték nagyobb antioxidáns hatékonyságot jelent. Guo és munkatársai (2023) elemzése szerint például a tejfehérjékből (kazein és savófehérje) *Lactobacillus* törzsek (*L. brevis*, *L. reuteri*, *L. plantarum*) fermentációjával előállított YLGYLEQLLR peptid – amely egy 10 aminosavból álló antioxidáns peptid – a következő aktivitást mutatta: DPPH gyökfogó aktivitásában $IC_{50} = 0,962$ mg/ml, az ABTS teszt esetében $IC_{50} = 0,737$ mg/ml. Ez összehasonlítható olyan jól ismert szintetikus antioxidánsok hatékonyságával, mint az aszkorbinsav ($IC_{50} \approx 0,05\text{--}0,10$ mg/ml DPPH-ra) vagy a BHT ($IC_{50} \approx 0,15\text{--}0,20$ mg/ml DPPH-ra), azonban a fermentációs peptidek előnye, hogy természetes eredetű és toxikológiailag biztonságosabb alternatívát kínálnak (Guo et al., 2023).

Az *in vitro* antioxidáns aktivitás mellett növekvő figyelem irányul az *in vivo* antioxidáns hatások vizsgálatára is. A fermentált tejfehérje-hidrolizátumok fogyasztása után megfigyelhető a plazma antioxidáns kapacitásának növekedése, valamint az oxidatív stressz markereinek csökkenése (Zhao et al., 2021). Ezek az eredmények az öregedési folyamatok lassításában, a krónikus betegségek megelőzésében és az általános egészségügyi állapot javításában játszanak szerepet. A bioelérhetőség és a metabolikus stabilitás kérdései azonban továbbra is aktív kutatási területek, mivel az antioxidáns peptidek egy része degradálódhat a gyomor-bél rendszerben való áthaladás során (Nasri et al., 2022).

Az antioxidáns hatás hosszú távú egészségügyi következményei között kiemelhető a kardiovaszkuláris védelem, a neurodegeneratív betegségek kockázatának csökkentése,

valamint a daganatos betegségek megelőzése. Ezek a hatások nemcsak az antioxidáns aktivitás közvetlen következményei, hanem a gyulladási folyamatok modulálásának és az immunrendszer támogatásának eredményei is (Mohanty et al., 2016).

2.4.3. Antihipertenzív hatás

Az antihipertenzív hatások elsősorban az angiotenzin-konvertáló enzim (ACE) gátlásán keresztül valósulnak meg. Az ACE kulcsenzim a renin-angiotenzin rendszerben, amely az angiotenzin I-et angiotenzin II-vé alakítja, ezáltal növelve a vérnyomást érösszehúzó hatása révén. A fermentáció során keletkező dipeptidek, különösen a valin-prolin-prolin (VPP) és izoleucin-prolin-prolin (IPP) szekvenciák, hatékonyan gátolják az ACE aktivitását, ami vérnyomáscsökkentő hatást eredményez (Mohanty et al., 2016; Panayotova et al., 2018).

Az ACE-gátló peptidek hatásmechanizmusa többértű. A *Lactobacillus helveticus* és *L. casei* fermentációval előállított peptidek (például KPAGDF, KAALSGM) molekuláris dokkolási vizsgálatok alapján hidrogénkötéseken, hidrofób kölcsönhatásokon és van der Waals-erőkön keresztül kötődnek az ACE aktív centrumához, ezáltal gátolva annak aktivitását. Guo és munkatársai (2023) kutatásai szerint ezek a peptidek egyrészt akut vérnyomáscsökkentő hatást fejtenek ki, másrészt hosszú távú kardiovaszkuláris védőhatással rendelkeznek.

A klinikai vizsgálatok megerősítették az ACE-gátló peptidek hatékonyságát. A valin-prolin-prolin (VPP) és izoleucin-prolin-prolin (IPP) peptidek szájon át történő adagolása hatékonyan csökkentette a vérnyomást hipertóniás egyéneknél, különösen ázsiai populációkban. Yamaguchi és munkatársai (2009) kimutatták, hogy a VPP és IPP peptidek az aortában ACE-gátlóként működnek, ahol fokozzák az endoteliális nitrogén-oxid szintáz (eNOS) és a connexin 40 génexpresszióját, ezáltal javítva az érfunkciót és megelőzve a kardiovaszkuláris károsodást.

2.4.4. Koleszterincsökkentő hatás

A koleszterincsökkentő hatások többféle mechanizmuson keresztül érvényesülnek. A *Lactobacillus* törzsek egyes képviselői képesek közvetlenül metabolizálni a koleszterint, míg mások a koleszterin felszívódását gátló vegyületeket termelnek (Patel, 2015; Tsai et al., 2014). Az egyik legfontosabb mechanizmus az epesav-só-hidroláz (BSH) enzim aktivitása, amely dekonjugálja az epe sókat. Kumar és munkatársai (2012) kimutatták, hogy a BSH-aktivitással rendelkező probiotikus baktériumok dekonjugálják az epesókat a vékonybélben, amelyek ezáltal kevésbé oldhatóvá válnak és nagyobb mértékben ürülnek ki a széklettel. Ez a folyamat csökkenti a koleszterin visszaszívódását és serkenti az új epesavak szintézisét a májban, ami viszont csökkenti a szérumban a koleszterinszintjét.

Wang és munkatársai (2019) részletesen vizsgálták a BSH-aktivitás koleszterincsökkentő hatását *Lactobacillus plantarum* AR113 és *L. casei* pWQH01 törzsekkel. Eredményeik szerint a magas BSH-aktivitású törzsek szignifikánsan csökkentették a szérum összkoleszterin alacsony sűrűségű lipoprotein-koleszterin szintjét és az aterogenitási indexet hiperkoleszterinémiás egerekben. A mechanizmus feltárása során kimutatták, hogy ezek a törzsek csökkentették a farnesoid X receptor és a kis heterodimer partner génexpresszióját, miközben növelték a koleszterin 7 α -hidroxiláz génexpresszióját a májban, ezáltal fokozva a koleszterin katabolizmusát epesavakká.

A fermentáció során keletkező oligopeptidek és egyéb anyagcsere-termékek szintén hozzájárulnak a koleszterinszint csökkentéséhez a bélrendszerben való kötődésük révén. Ez a hatás különösen értékes a metabolikus szindróma és a szívbetegségek megelőzésében (Nasri et al., 2022).

Prebiotikus hatás

A prebiotikus hatások a fermentáció során keletkező oligopeptidek és aminosavak révén valósulnak meg, amelyek szelektív táplálékot biztosítanak a hasznos bélbaktériumok számára. Gao és munkatársai (2024) kutatásai szerint a tejfehérje-hidrolizátumok támogatják a *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsek növekedését és modulálják a bélmikrobiom összetételét is, ezzel fokozva a mikrobiális diverzitást és stabilitást. Ez a hatás kiegészíti a probiotikus mikroorganizmusok közvetlen hatásait és hosszú távú bélrendszeri egészségügyi előnyöket biztosít.

Technológiai hatások

A technológiai hatások szempontjából a fermentáció során bekövetkező fehérjemodifikációk jelentősen javítják a végtermék funkcionális tulajdonságait. A részleges hidrolízis következtében javul a fehérjék oldhatósága, emulgeáló képessége és habstabilitása, ami további előnyöket jelent az élelmiszeripari alkalmazásokban (Meena et al., 2017).

A fermentáció során végbemenő Maillard-reakciók és egyéb nem-enzimatikus folyamatok komplex aromaprofilokat eredményeznek, amelyek javítják a végtermék érzékszervi tulajdonságait. Ezek a vegyületek fokozzák az ízelményt, valamint további antioxidáns és antimikrobiális tulajdonságokkal is rendelkezhetnek, tovább növelve a termék funkcionális értékét (Zhao et al., 2021).

3. Anyag és módszer

A fejezetben a kísérletek során felhasznált mikroorganizmus törzseket, táptalajokat, vegyszereket és egyéb anyagokat mutatom be, részletezve azok forrását, összetételét és a kísérleti felhasználás előtti előkészítésüket. Továbbá ismertetem a fermentációs kísérletek kivitelezését, a mikrobiológiai vizsgálati módszereket, valamint az alkalmazott analitikai technikákat, beleértve a HPLC-elemzést és az antioxidáns aktivitás meghatározását. A fejezet végén a statisztikai adatértékelés módszertanát és a reprodukálhatóság biztosítására tett intézkedéseket részletezem.

3.1. Felhasznált anyagok

3.1.1. Mikroorganizmus törzsek

A kutatásom során három, ipari szempontból is jelentős, probiotikus tulajdonságokkal rendelkező baktériumtörzset alkalmaztam. A liofilizált (fagyasztva szárított) formában beszerzett tenyészetek a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Élelmiszertudományi és Technológiai Intézetének törzsgyűjteményéből származtak.

A vizsgált probiotikus törzsek a következők voltak:

- *Lactobacillus acidophilus* LA-5®: A Chr. Hansen (Dánia) cégtől származó, széles körben dokumentált probiotikus törzs.
- *Lactobacillus plantarum* 299v: Egy sokoldalú, növényi és tejipari környezetből is izolált tejsavbaktérium.
- *Bifidobacterium longum* DSM 16603: Egy, az emberi bélflórában is megtalálható, obligát anaerob probiotikus mikroorganizmus.

Patogén indikátortörzsek: Az antimikrobiális hatás vizsgálatához a következő, élelmiszerbiztonsági szempontból releváns humán kórokozók apatogén törzseit, illetve tesztorganizmusokat alkalmaztam:

- *Escherichia coli* ATCC 8739
- *Escherichia coli* O157:H7
- *Enterococcus faecalis*
- *Enterobacter cloacae*
- *Listeria innocua* ATCC 33090

3.1.2. Tápközegek, oldatok

Általános táptalajok

Tejfehérje koncentrátum (MPC)

A fermentációs kísérletek prebiotikus hatású komponenseként egy kereskedelmi forgalomban kapható, porlasztva szárított tejfehérje-koncentrátumot (MPC) használtam. Az alkalmazott MPC egy ultraszűréssel előállított, 80%-os fehérjetartalmú készítmény, amely a tejben természetesen előforduló kazein és tejsavófehérje arányt (kb. 80:20) megőrzi. Az MPC port a felhasználásig száraz, hűvös helyen, eredeti, csomagolásában tároltam.

MRS tápleves és agar

A probiotikus törzsek tenyésztéséhez és az élősejtszám-meghatározáshoz standard összetételű de Man, Rogosa és Sharpe (MRS) táptalajt alkalmaztam. A tápleves elkészítéséhez 55,2 g/l dehidratált táptalajt (VWR) oldottam fel desztillált vízben az alábbi összetétellel:

- Proteóz-pepton: 10,0 g/l
- Húskivonat: 10,0 g/l
- Élesztőkivonat: 5,0 g/l
- Dextróz (glükóz): 20,0 g/l
- Poliszorbát 80 (Tween 80): 1,0 g/l
- Triammónium-citrát: 2,0 g/l
- Nátrium-acetát: 5,0 g/l
- Magnézium-szulfát: 0,1 g/l
- Mangán-szulfát: 0,05 g/l
- Dikálium-hidrogén-foszfát: 2,0 g/l

A szilárd táptalaj (MRS agar) elkészítéséhez a leveshez 15,0 g/l (1,5% w/v) bakteriológiai agart adtam. Az elkészített táptalajokat 121 °C-on, 15 percig autoklávoztam.

Tripton-szója tápközeg

Az antimikrobiális vizsgálatok során az indikátortörzsek tenyésztéséhez Tripton-szója levest (TSB) és Tripton-szója agart (TSA) alkalmaztam. A tápközegeket a gyártó (VWR) ajánlása alapján készítettem el, 30 g/l bemérésével, majd 121 °C-on, 15 percig autoklávoztam.

MPC-tartalmú MRS tápleves

A tejfehérje-koncentrátummal kiegészített táptalaj az alábbi összetételt tartalmazta:

- Glükóz: 20,0 g/l
- Tejfehérje-koncentrátum (MPC): a kísérleti beállítástól függően
 - 11,0 g/l (1,1% w/v)
 - 22,0 g/l (2,2% w/v)
 - 44,0 g/l (4,4% w/v)
- Nátrium-acetát ($C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$): 5,0 g/l
- Kálium-hidrogén-foszfát (K_2HPO_4): 2,0 g/l
- Triammónium-citrát: 2,0 g/l
- Magnézium-szulfát ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$): 0,2 g/l
- Mangán-szulfát ($MnSO_4 \cdot 4H_2O$): 0,05 g/l
- Tween 80: 1,0 g/l

Az MRS tápleves hagyományos nitrogéntartalmú komponenseit (húskivonat, élesztőkivonat, pepton) teljes mértékben kihagytam, és azokat a megfelelő mennyiségű MPC-vel helyettesítettem. Az összetevőket laboratóriumi mérlegemmel kimértem, majd desztillált vízben mágneses keverő segítségével oldottam fel. Az így elkészített táptalajokat 121 °C-on, 15 percig autoklávoztam.

Fiziológiás sóoldat

A mikrobiológiai mérések során a mintákból készített hígítási sorokhoz steril fiziológiás sóoldatot használtam. A fiziológiás sóoldatot 0,85% (w/v) nátrium-klorid (NaCl) desztillált vízben történő oldásával állítottam elő, ami 8,5 gramm NaCl bemérését jelentette literenként.

Az oldatot felhasználás előtt 121 °C-on, 15 percig autoklávoztam a sterilitás biztosítása érdekében.

Desztillált víz Minden oldatot és táptalajt ioncserélt vízzel (demineralizált víz) készítettem.

A kísérletek során analitikai tisztaságú vegyszereket és reagenseket használtam.

Oldatok az összes fenolos tartalom (TPC) meghatározásához

- **Folin-Ciocalteu reagens:** A méréshez Folin-Ciocalteu's fenol reagenst használtam. A kereskedelmi forgalomban kapható, 2N koncentrációjú törzsoldatot a mérés előtt 1:9 arányban hígítottam desztillált vízzel, így kaptam meg a kísérletek során használt koncentrációt (munkareagenst).
- **0,7 M Nátrium-karbonát oldat:** A lúgos közeg biztosításához 0,7 M koncentrációjú nátrium-karbonát oldatot készítettem. Ehhez 74,193 g vízmentes nátrium-karbonát mértem be, majd 1000 cm³-re egészítettem ki desztillált vízzel.
- **Galluszsav standard:** A kalibrációs görbe elkészítéséhez standardként galluszsavat használtam 0-300 mg/100cm³ koncentrációtartományban. A törzsoldatot és a hígítási sort a mérés leírásánál részletezett módon készítettem el.
- **Metanol:** A minták extrakciójához és hígításához 4:1 arányú metanol: víz elegyet használtam, analitikai tisztaságú metanollal készítve.

Oldatok a HPLC analízishez:

- **Eluens (mozgófázis):** Az analízishez 0,005n H₂SO₄ oldatot használtam mozgófázisként. Az oldatot analitikai tisztaságú, koncentrált kénsavból készítettem nagy tisztaságú (HPLC-grádusú) vízzel.

3.2. Általános vizsgálati módszerek

A kutatás során alkalmazott analitikai módszerek a probiotikus mikroorganizmusok fermentációs tevékenységének, növekedési dinamikájának és funkcionális tulajdonságainak komplex értékelését szolgálták. A vizsgálatokat standardizált protokollok alapján végeztem, biztosítva a reprodukálhatóságot és a nemzetközi összehasonlíthatóságot. Hat fő területet öleltem fel: élősejtszám meghatározást szélesztéses technikával, növekedési dinamika követését optikai denzitás méréssel, kémhatás változásának monitorozását pH-elektrodával,

összes fenolos tartalom spektrofotometriás meghatározását, metabolikus végtermékek nagy teljesítményű folyadékkromatográfiával történő analizését, valamint antimikrobiális hatás vizsgálatát agar-lyuk diffúziós módszerrel.

3.2.1. Oltókultúrák előkészítése

A munkatörzseket liofilizált állapotból de Man, Rogosa és Sharpe (MRS) tápközegben élesztettem fel, majd frissítő átoltást követően 37 °C-on inkubáltam, ezután 4 °C-os hűtőszekrényben tároltam a vitalitásuk és tisztaságuk megőrzése érdekében, egészen a további felhasználásig. Az aktív tenyészetek előállításához a felélesztett törzsekből steril MRS táplevesbe frissítő átoltást végeztem. A beoltott tenyészeteket ismét 24 órán keresztül 37°C-on inkubáltam, a *Lactobacillus* törzsek esetében aerob, a *Bifidobacterium longum* esetében anaerob körülmények között. A *Bifidobacterium longum* tenyésztéséhez szükséges anaerob atmoszférát ($O_2 < 1\%$, $CO_2 > 13\%$) anaerob jar-ral és mécses használatával biztosítottam.

3.2.2 MPC fermentáció

A fermentációs kísérletek megbízható és reprodukálható eredményeinek biztosítása érdekében 24 órás MRS táplevesben felszaporított tenyészetet használtam. A különböző MPC koncentrációjú MRS tápközegekben megvalósított fermentációknál minden esetben 1%-os (v/v) beoltási arányt alkalmaztam, majd 37 °C-on inkubáltam 40 óráig a mikroorganizmusokat tartalmazó közeget.

3.2.3. Mintavételezés

A fermentációs folyamat nyomon követése érdekében a 40 órás inkubációs periódus alatt több időpontban is mintát vettem minden egyes tenyészetből. A mintavételezési időpontok a következők voltak: 0, 3, 6, 9, 15, 24 és 40 óra (az első vizsgálatnál 18 és 21 órás mintavételt is alkalmaztam a szaporodási szakaszok pontosabb meghatározásához). Minden mintavételi pontban aseptikus körülmények között mintát vettem a mikrobiológiai, fizikokémiai és analitikai vizsgálatokhoz.

3.2.4. Élősejtszám meghatározása

Az életképes mikroorganizmusok mennyiségének meghatározását klasszikus telepszámlálási módszerrel végeztem. A fermentációs mintákból tizedelő hígítási sort készítettem steril fiziológiás sóoldatban, majd a megfelelő hígítási tagokból 100 µl térfogatot kettő párhuzamos ismétlésben lemezöntéssel MRS tápagarba vittem be. A probiotikus *Lactobacillus* törzsek esetében aerob körülmények között 37°C-on 48-72 órán át inkubáltam a lemezeket. A

Bifidobacterium longum esetében anaerob környezetet biztosítottam és szintén 37°C-on 48-72 órás inkubáció történt.

A kiértékelés során a 30-300 kolóniát tartalmazó lemezeket vettem figyelembe, és a telepkepző egységek számát (TKE/ml) a hígítási faktor beszámításával határoztam meg. A módszer lehetőséget biztosított a mikroorganizmusok életképességének és szaporodóképességének kvantitatív nyomon követésére a fermentáció teljes időtartama alatt.

3.2.5 Növekedési dinamika vizsgálata

A probiotikus mikroorganizmusok szaporodásának valós idejű követésére spektrofotometriás módszert alkalmaztam. Az optikai denzitás (OD₆₀₀) mérése egy noninvazív, gyors és megbízható technika a bakteriális biomassza változásának nyomon követésére, amely lehetővé teszi a növekedési fázisok (lag, exponenciális, stacionárius, pusztulási) pontos meghatározását. Steril, 96 lyukú, fedéllel ellátott polisztirol mikrotiter lemezekbe 200 µl tápközeget és 10 µl 24 órás baktérium tenyészetet oltottam. A lemezeket egy termosztált mikrolemez-olvasóban inkubáltam 37°C-on. A tenyészetek abszorbanciáját (optikai denzitását) 600 nm-es hullámhosszon mértem félóránként, 40 órán keresztül. Minden mérésnél a megfelelő, nem beoltott táplevest használtam vakmintaként a korrekcióhoz.

A kapott OD₆₀₀ adatokból növekedési görbéket szerkesztettem, amelyekből meghatároztam a fajlagos szaporodási sebességet (µ) és a generációs időt (tg). A fajlagos szaporodási sebességet az exponenciális növekedési fázis lineáris szakaszának meredekségéből számítottam ki a következő képlet alapján:

$$\mu = (\ln OD_2 - \ln OD_1) / (t_2 - t_1)$$

ahol OD₁ és OD₂ az exponenciális fázis kezdetének és végének optikai denzitás értékei, t₁ és t₂ pedig a megfelelő mérési időpontok. A generációs időt (tg) az alábbi összefüggés segítségével határoztam meg:

$$tg = \ln 2 / \mu = 0,693 / \mu$$

A számításokhoz az exponenciális fázis lineáris részének legalább 4-5 mérési pontját használtam fel a pontosság érdekében.

3.2.6. pH-mérés

A fermentáció során bekövetkező kémhatás-változások követésére pH-mérést végeztem digitális asztali pH-mérővel a mintavételi időpontokban. A műszert minden mérési sorozat előtt pH 4,0 és 7,0 értékű pufferoldatokkal kalibráltam.

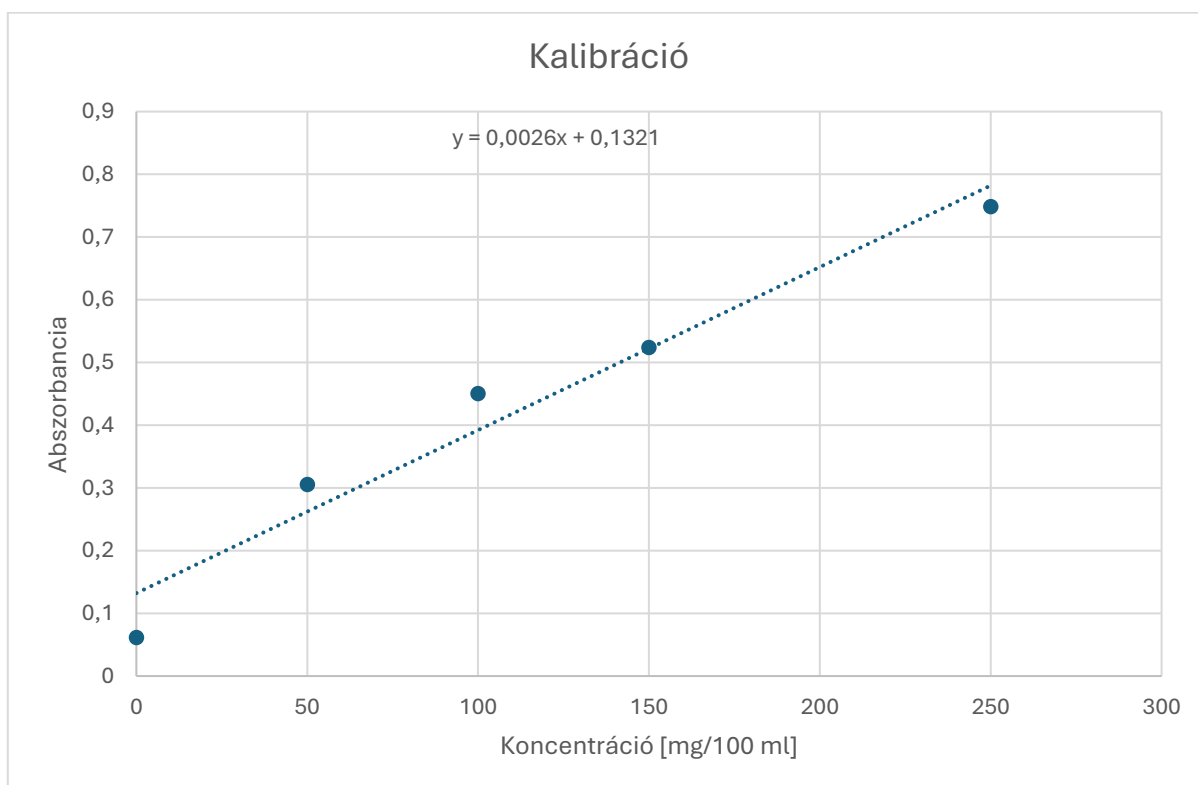
3.2.7. Összes fenolos tartalom meghatározása

A fermentáció során vett mintákat centrifugálással (14000 rpm, 10 perc) szeparáltam, majd a tiszta felülúszót használtam közvetlenül a további analízishez. 240 µl mintához 1250 µl 1:9 arányban hígított Folin-Ciocalteu reagenst adtam, és 1 percig hagytam állni. Ezt követően 1000 µl 0,7 M nátrium-karbonát oldatot adtam a reakcióelegyhez a lúgos közeg biztosítása érdekében. A reakcióelegyet 5 percig 50°C-os vízfürdőben inkubáltam a színreakció felgyorsítása céljából. A kihűlt minták abszorbanciáját spektrofotométeren mértem 765 nm-en, vakmintaként desztillált vizet alkalmaztam.

A koncentráció meghatározásához galluszsavból készített kalibrációs görbét alkalmaztam 0–300 mg/100 cm³ koncentrációtartományban (1. ábra).

1. ábra: Galluszsav kalibrációs standardok és koncentrációk (0–300 mg/100 ml) közötti lineáris összefüggés

(Forrás: Saját szerkesztés)



A mért abszorbancia és a galluszsav-koncentráció közötti lineáris összefüggés meredeksége 0,0026 volt, amely alapján a minták TPF (összes fenolos tartalom) értékeit galluszsav-egyenértékben (GAE, mg/100 ml) adtam meg. Az eredményeket galluszsav-ekvivalensben (mg GAE/ml) fejeztem ki, amely bevett módszer a fenolos vegyületek mennyiségének megadására.

Antioxidáns aktivitás százalékos változásának számítása:

Az antioxidáns aktivitás százalékos változását (SVA) minden táptalajnál az alábbi képlet alapján számítottam ki:

$$SVA = \frac{C_t - C_0}{C_0} \times 100$$

ahol

C_t az adott mintában a fermentáció 40. órájában mért TPF érték (mg GAE/100 ml),

C_0 pedig a kiindulási (0 órás) TPF érték (mg GAE/100 ml).

Ez a normalizált mutató kiküszöböli a különböző táptalajok eltérő kiindulási értékeiből adódó torzítást, így a fermentáció alatt bekövetkezett abszolút változások helyett a relatív antioxidáns aktivitás változását adja meg.

3.2.8. HPLC analízis

A glükóz kvantitatív meghatározását nagy teljesítményű folyadékkromatográfiával (HPLC) végeztem. Ez a módszer lehetőséget biztosított a metabolikus végtermékek pontos azonosítására és mennyiségi meghatározására. A fermentációs mintákat centrifugálással (14000 rpm, 10 perc) derítetttem a sejtek és egyéb szilárd részecskék eltávolítása érdekében. A tiszta felülúszót HPLC csövekbe pipettáztam, és közvetlenül felhasználtam az analízishez.

HPLC rendszer felépítése:

- Készülék: Thermo Fisher Scientific Corporation HPLC rendszer
- Detektor: PDA detektor (210 nm) és RI detektor (410 nm) párhuzamos alkalmazása
- Oszlop: Aminex 87H (ion-kizárásos kromatográfias oszlop)
- Integrátor program: ChromQuest 5.0 szoftver

Kromatográfias paraméterek:

- Mozgófázis: 0,005N H₂SO₄ (kénsav oldat)
- Áramlási sebesség: 0,6 ml/perc
- Oszlop hőmérséklet: 45°C
- Detektor hőmérséklet: 45°C

- Injektált minta mennyisége: 10 µl
- Futási idő: 25 perc

Detektálás elve: A PDA detektor (210 nm) a szerves savak UV abszorpciója alapján detektálta az analitokat, míg az RI detektor (410 nm) elsősorban a szénhidrátok kimutatására szolgált. A kettős detektálás biztosította az analitok megbízható azonosítását és mennyiségi meghatározását.

Standard oldatok és kalibráció: A minták koncentrációjának meghatározásához ismert koncentrációjú standard oldatokból készített kalibrációs görbéket alkalmaztam. A standard oldatokat tejsav, ecetsav és glükóz analitikai tisztaságú vegyületeiből készítettem a várható koncentráció tartományban.

Kiértékelés: Az eredményeket a ChromQuest 5.0 szoftver segítségével integráltam majd a kalibrációs egyenletek alapján számítottam ki az egyes metabolitok koncentrációit Excel segítségével.

3.2.9. Antimikrobiális hatás vizsgálata

A fermentált minták antimikrobiális aktivitásának vizsgálatára agar-lyuk diffúziós módszert alkalmaztam. Ez a módszer alkalmas a probiotikus kultúrák által termelt bioaktív vegyületek (szerves savak, bakteriocinek, egyéb metabolitok) mikroorganizmusokkal szembeni gátló hatásának kimutatására.

A tesztmikroorganizmusokat lemezöntéssel módszerrel a megfelelő táptalajjal (Trypton-szója agar, TSA) együtt öntöttem lemezre, majd körkörös mozdulatokkal homogenizáltam a Petri csészében. A beoltott agar megdermedését követően steril lyukfúróval 8 mm átmérőjű lyukakat készítettem, amelyekbe 100 µl-t mértem be az egyes kísérleti összeállításokból különböző időpontokban (0, 3, 6, 9, 15, 24, 40 óra) vett mintákból. A lemezeket először 4°C-os hűtőbe helyeztem 1 órára, hogy a bepipettázott mintáknak elegendő ideje legyen bediffundálni a patogéneket tartalmazó agarba, majd 37°C-on 24 órán keresztül inkubáltam.

Kiértékelési módszerek:

Az antimikrobiális hatást a lyukak körül kialakuló feltisztulási zóna (gátlási zóna) átmérőjének milliméterben történő lemerésével értékeltem. A nagyobb átmérőjű gátlási zónák erősebb antimikrobiális aktivitást jeleztek.

A halo-zónás gátlási tesztek kiértékelésére a szakirodalomban nincs egységesen elfogadott standard módszer, mivel a gátlási hatékonyság többféle szempontból is értékelhető. Ezért három különböző indexet dolgoztam ki, amelyek különböző aspektusait hangsúlyozzák a gátlásnak:

1. Korrigált Gátlási Átmérő (KG)

Ez az index a gátlási hatás teljes kiterjedését mutatja, a lyuk méretével korrigálva:

$$KG \text{ (mm)} = \text{Külső átmérő} - 8$$

A KG azt jelzi, hogy összességében mekkora területen érvényesül a gátlás. Minél nagyobb ez az érték, annál kiterjedtebb a gátlási zóna.

2. Gátlási Közelítés (GK)

Ez az index a hatás potenciáját írja le azáltal, hogy számszerűsíti, milyen messzire kezdődik a gátlás a lyuk peremétől:

$$GK \text{ (mm)} = \text{Belső átmérő} - 8$$

A GK azt mutatja, hogy van-e közvetlenül a lyuk körül "halott zóna", ahol a gátló anyag koncentrációja olyan magas, hogy azonnali gátlást eredményez. Alacsonyabb GK érték erősebb, azonnali hatást jelez.

3. Kombinált Hatékonysági Index (KHI)

A hatás átfogó értékeléséhez olyan mutatóra volt szükség, amely egyszerre veszi figyelembe a gátlás kiterjedését és potenciáját:

$$KHI = \frac{KG}{GK + 1}$$

Ez az index akkor magas, ha a gátlás kiterjedt (magas KG) és egyben potens (alacsony GK). A nevezőhöz hozzáadott +1 biztosítja, hogy a 0 GK értéknél (azonnali gátlás a lyuk peremétől) ne legyen osztás nullával, és a KHI maximális értéket kapjon. A KHI egyetlen számban egyesíti a gátlás kiterjedését és intenzitását, így lehetővé teszi a különböző minták közvetlen összehasonlítását.

3.3. Statisztikai elemzés

Az analitikai eredmények komplex értékelése és összehasonlíthatósága érdekében standardizált kiértékelési módszereket alkalmaztam. A kísérleti adatok feldolgozását és az alapvető számításokat Microsoft Excel 365 szoftver segítségével végeztem.

4. Eredmények és kiértékelése

Ebben a fejezetben a tejfehérje-koncentrátummal (MPC) dúsított tápközegekben végzett fermentációs kísérleteim kvantitatív és funkcionális eredményeit mutatom be. A vizsgálat során feltártam az MPC különböző koncentrációinak hatását három probiotikus baktériumtörzs életképességére, növekedési dinamikájára, antioxidáns aktivitására, metabolit-termelésére és antimikrobiális tulajdonságaira.

A kutatásom során az MPC hatásának vizsgálatához a standard MRS tápleves módosított változatait hoztam létre, amelyekben az eredeti nitrogénforrást teljes mértékben tejfehérje-koncentrátummal (MPC) helyettesítettem. Ez a megközelítés lehetővé tette annak feltárását, hogy a probiotikus baktériumok képesek-e az MPC-ben lévő komplex fehérjéket tápanyagforrásként hasznosítani, illetve milyen mértékben befolyásolja az alkalmazott szubsztrát a mikroorganizmusok növekedését, metabolikus aktivitását és bioaktív tulajdonságainak kialakulását.

4.1. MPC koncentrációk hatása probiotikumok szaporodására és metabolit termelésére

A tejsavbaktériumok fenntartására szolgáló MRS tápközeg módosított változatait hoztam létre a nitrogéntartalmú vegyületek tejfehérje-koncentrátumra való cserélésével különböző koncentrációkban: 1,1%, 2,2% és 4,4% (w/v). A koncentrációk megválasztását a 2,2%-os központi érték alapján végeztem, amely nitrogéntartalma megegyezett a standard MRS összes nitrogéntartalmával. Ez a szisztematikus megközelítés lehetővé tette a koncentráció-hatás összefüggések pontos feltárását a három probiotikus törzs szaporodása tekintetében.

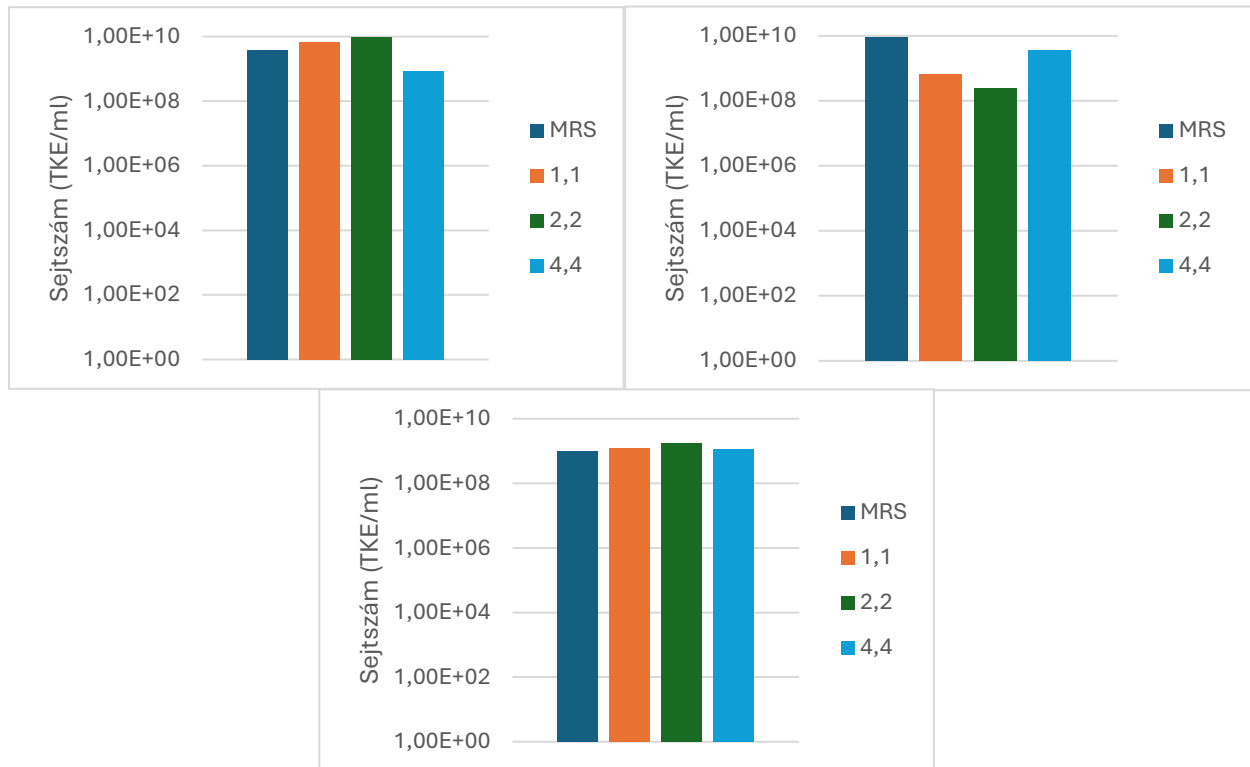
4.1.1. Élősejtszám alakulása

Az élőcsíraszám meghatározását tizedelő hígítást követő lemezöntéssel végeztem a fermentáció kezdetén (0 óra) és végén (40 óra). A kiindulási sejtszámok 1%-os beoltás mellett a következők voltak: *Lactobacillus plantarum* 299v esetében $5,68 \times 10^7$ TKE/ml, *Bifidobacterium longum* DSM 16603 esetében $1,80 \times 10^6$ TKE/ml, és *Lactobacillus acidophilus* LA-5 esetében $7,10 \times 10^6$ TKE/ml.

A 40 órás fermentáció végére mindhárom törzs törzsspecifikus növekedési mintázatokat mutatott (2. ábra).

2. ábra: Probiotikus baktériumtörzsek élősejtszámának alakulása 40 órás fermentáció után különböző MPC-koncentrációk jelenlétében. *A. L. plantarum* 299v, *B. B. longum* DSM 16603, *C. L. acidophilus* LA-5.

(Forrás: Saját szerkesztés)



A *Bifidobacterium longum* DSM 16603 növekedése az MPC jelenlétében minden koncentrációban elmaradt a kontroll MRS tápleveshez képest. A kontroll táptalajban mért $8,97 \times 10^9$ TKE/ml értékhez viszonyítva az MPC 1,1%-os koncentrációja esetén 92,6%-kal ($0,66 \times 10^9$ TKE/ml), az MPC 2,2%-nál 97,3%-kal ($0,24 \times 10^9$ TKE/ml), míg az MPC 4,4%-nál 60,5%-kal ($3,55 \times 10^9$ TKE/ml) kisebb élőcsíraszámot határoztam meg. Ez az eredmény összhangban van korábbi megfigyelésekkel, miszerint a *Bifidobacterium* törzsek gyengén növekednek tiszta tejben, mivel nem rendelkeznek sejthez kötött proteináz aktivitással, és így korlátozott a fehérjebontó képességük (Sodini et al., 2002). A bifidobaktériumok nitrogénigényét főként a peptidok és aminosavak elégítik ki, a komplex fehérjék azonban nehezen hozzáférhető számukra külső proteolízis nélkül (Ummadi & Curic-Bawden, 2008).

A *Lactobacillus plantarum* 299v esetében az alacsony és közepes MPC-koncentrációk a növekedést serkentették, míg a legnagyobb koncentráció gátolta a szaporodást. A kontroll MRS táptalajban mért $3,84 \times 10^9$ TKE/ml értékhez képest az MPC 1,1%-os koncentrációja 69,3%-

kal ($6,50 \times 10^9$ TKE/ml), míg az MPC 2,2%-a 53%-kal ($9,72 \times 10^9$ TKE/ml) növelte a végső sejtszámot. Az MPC 4,4%-os koncentrációja azonban 78,1%-os csökkenést eredményezett ($8,40 \times 10^8$ TKE/ml). Ez a jelenség megfelel a szakirodalmi adatoknak, amelyek szerint az 1%-os MPC koncentráció optimális a *Lactobacillus plantarum* törzsek növekedéséhez és antimikrobiális metabolit termeléséhez, míg a nagyobb koncentrációk gátló hatást fejthetnek ki (Yousefi et al., 2024).

Lactobacillus acidophilus LA-5 minden MPC-koncentráció mellett növekedést mutatott a kontrollhoz képest. A kontroll MRS táptalajban mért $1,00 \times 10^9$ TKE/ml végső sejtszámhoz viszonyítva az MPC 1,1%-os koncentrációja szinte azonos szintet ért el ($1,23 \times 10^9$ TKE/ml, +23%), az MPC 2,2%-a pedig körülbelül 1,7-szeresére nőtt ($1,72 \times 10^9$ TKE/ml, +72%), míg az MPC 4,4%-a gyakorlatilag megegyezett a kontrollal ($1,14 \times 10^9$ TKE/ml, +14%). Ezek az eredmények azt jelzik, hogy az LA-5 törzs növekedése az MPC-vel csak mérsékelten módosult, amely az MPC-ben való adaptációjának korlátait tükrözi. Gustaw és munkatársai (2011) szintén megfigyelték, hogy a tejfehérje-preparátumok különböző koncentrációi serkentették az LA-5 törzs szaporodását fermentált tejtermékekben, és az optimális koncentráció erősen törzsspecifikus volt. Sodini és munkatársai (2002) azt találták, hogy az LA-5 törzs jól növekszik tejben, és a kazein-hidrolizátumok hozzáadása tovább javította a sejtnövekedést, különösen hosszabb fermentációs idők esetén.

4.1.2. pH-változás a fermentáció során

A pH a fermentáció egyik kritikus paramétere, amely közvetlenül tükrözi a tejsavbaktériumok metabolikus aktivitásának intenzitását. A fermentáció során mind a négy vizsgált tápközegben jelentős pH-csökkenés volt megfigyelhető (4.táblázat).

A kontroll MRS táplevesben mindhárom törzs hasonló pH-csökkenést produkált a 40 órás fermentáció alatt: *L. acidophilus* LA-5 esetén 2,50 pH-egység (6,27-ről 3,77-re), *L. plantarum* 299v esetén 2,62 pH-egység (6,27-ről 3,65-re), és *B. longum* DSM 16603 esetén 2,61 pH-egység (6,27-ről 3,66-ra). Ez a nagymértékű csökkenés megfelel a szakirodalmi adatoknak. Jensen és munkatársai (2009) szintén azt találták, hogy a tejsavbaktériumok 24-48 óra alatt képesek a pH-t 6,3-ról 3,5 alá csökkenteni standard MRS-ben.

4. táblázat. A pH-értékek alakulása a fermentáció során három törzsnél különböző tápközegekben (0 és 40 órás méréspontok)

(Forrás: Saját szerkesztés)

Tápközeg	Mérési idő (h)	<i>L. acidophilus</i> LA-5	<i>L. plantarum</i> 299v	<i>B. longum</i> DSM 16603
MRS	0	6,27	6,27	6,27
	40	3,77	3,65	3,66
	Δ pH	-2,50	-2,62	-2,61
MPC 1,1%	0	7,50	7,50	7,50
	40	5,23	4,74	4,29
	Δ pH	-2,27	-2,76	-3,21
MPC 2,2%	0	7,11	7,11	7,11
	40	4,66	4,47	4,51
	Δ pH	-2,45	-2,64	-2,60
MPC 4,4%	0	7,08	7,08	7,08
	40	4,31	4,17	4,40
	Δ pH	-2,77	-2,91	-2,68

Az MPC-t tartalmazó táptalajok magasabb kiindulási pH-értékei miatt (MPC 1,1%: pH 7,50; MPC 2,2%: pH 7,11; MPC 4,4%: pH 7,08) nagyobb abszolút pH-csökkenési potenciál állt rendelkezésre. Az MPC 1,1%-os koncentrációban a pH-csökkenés a legváltozatosabb volt: a *L. acidophilus* LA-5 2,27 egységgel (pH 5,23-ra), a *L. plantarum* 299v 2,76 egységgel (pH 4,74-re), míg a *B. longum* DSM 16603 3,21 egységgel (pH 4,29-re) csökkentette a tápközegek kémhatását. Az MPC 2,2%-os szubsztrát közel azonos pH-csökkenéseket eredményezett, mint

az MRS, ami azt sugallja, hogy az ehhez hasonló nitrogéntartalom egyenértékű metabolikus kapacitást biztosított. Az MPC 4,4%-os koncentrációban a *L. acidophilus* LA-5 a legerősebb savtermelést mutatta (2,77 pH-egység), összhangban azzal, hogy ebben az összetételben érte el a legnagyobb végső sejtszámot.

A részlegesen hidrolizált fehérjéket tartalmazó MPC-ben több alapvető aminosav és peptid áll rendelkezésre, amely módosíthatja a pH-csökkenés dinamikáját az eredeti fehérjékhez képest. Ezek a hidrolizátumok általában késleltetik a savtermelés kezdeti fázisát a komplex fehérjékhez képest, de később intenzívebbé válik a folyamat a nagyobb nitrogéntartalomnak köszönhetően.

4.1.3. Szerves savak termelése

HPLC-vel végzett kromatográfiai vizsgálatok alapján megállapítható, hogy a tejsav- és ecetsavtermelés mennyiségileg jelentősen eltért az egyes táptalajok között. A kontroll MRS táptalajban az 0–40 óra közötti fermentáció során a tejsavtermelés *L. acidophilus* LA-5 esetén kiemelkedő volt: a koncentráció 0,365 g/100 ml-ről 2,09 g/100 ml-re emelkedett, amely +1,725 g/100 ml (azaz +472,6%) növekedést jelent. Ez a drasztikus tejsavnövekedés egyértelműen a homofermentatív metabolikus útvonal dominanciáját tükrözi. Az LA-5 törzs az MRS-ben jelentős mennyiségű tejsavat termel 24–48 óra alatt standard fermentációs körülmények között (Meng et al., 2021).

Az MPC-t tartalmazó táptalajok között jellegzetes eltérések voltak tapasztalhatók (5. táblázat). Az MPC 1,1% és MPC 2,2% esetében a tejsavkoncentráció csökkent a fermentáció során (–10,6% és –17,9%), ami arra utal, hogy ezekben a közegekben a sejtek metabolikus aktivitása jelentősen gyengébb volt, mint az MRS-ben. Ezzel szemben az MPC 4,4% esetén a tejsav 0,056 g/100 ml-ről 0,074 g/100 ml-re nőtt (+31,8%), ami korrelál a nagyobb sejtszámmal és intenzívebb metabolikus aktivitással ebben a tápközegben.

Az ecetsavtermelés az MRS-ben szintén szignifikáns növekedést mutatott (0,253 g/100 ml-ről 0,284 g/100 ml-re, +12,3%), amely a vegyes sav-fermentáció jelenlétére utal. Az MPC-mintákban azonban az ecetsav-koncentráció változása minimális volt: az MPC 1,1%-nál változatlan (0,133 g/100 ml), az MPC 2,2%-nál csökkent (–8,4%), míg az MPC 4,4%-nál nőtt (+16,1%). Ez arra utal, hogy az MPC-ben a tejsavbaktériumok elsősorban homofermentatív útvonalat követnek, amely a tejsav-termelésre fókuszál. A heterofermentatív útvonalak csökkent intenzitása - a gyengébb ecetsav-felszabadulás miatt - jellemző tejfehérje-alapú fermentációs rendszerekben, ahol a szénhidrátok korlátozott elérhetősége miatt a sejtek alacsonyabb metabolikus sebességgel működnek. Meg kell azonban jegyezni, hogy az MRS

táptalaj magas kezdeti ecetsav-szintje (0,253 g/100 ml) a tápközeg Na-acetát tartalmából ered, ezért az ecetsav-koncentráció változása az MRS-ben részben a már jelenlévő acetát-tartalomra vezetendő vissza, amely az MPC-es minták esetén kevésbé releváns összehasonlítási pont.

5. táblázat. Tejsav- és ecetsavkoncentrációk alakulása a fermentáció során (*L. acidophilus* LA-5)

(Forrás: Saját szerkesztés)

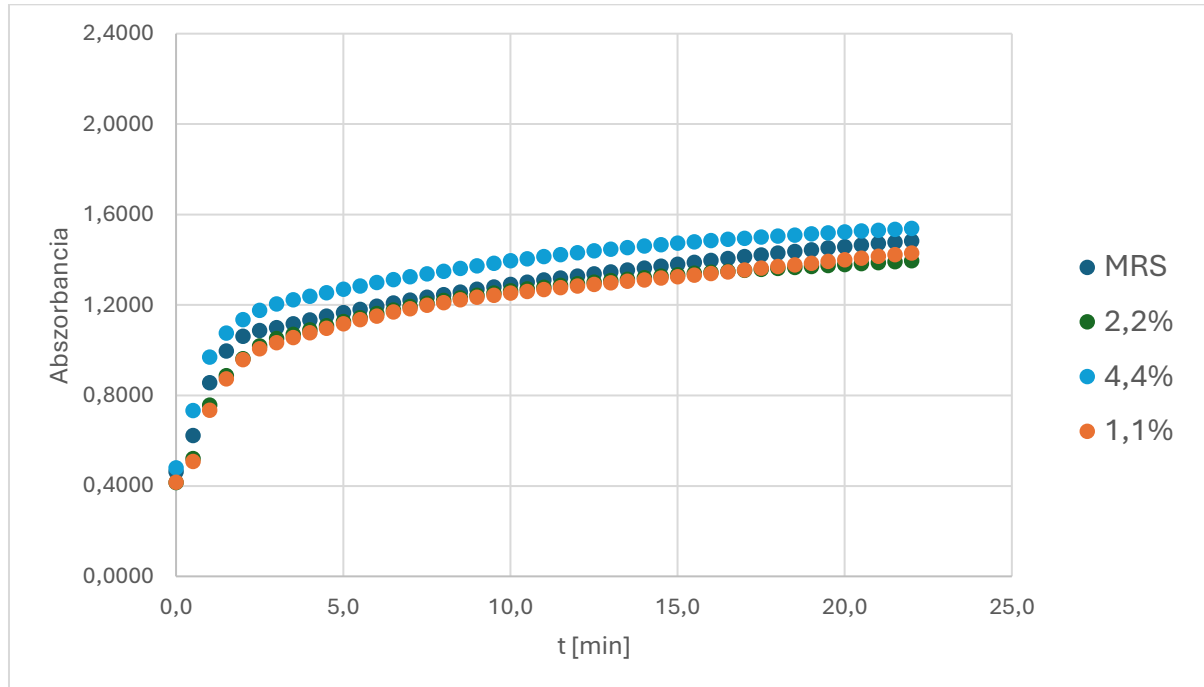
Tápközeg	Tejsav [g/100 ml]			Ecetsav [g/100 ml]		
	0 h	40 h	Változás	0 h	40 h	Változás
MRS	0,365	2,09	+1,725(+472,6%)	0,253	0,284	+0,031(+12,3%)
MPC 1,1%	0,0292	0,0261	-0,0031(-10,6%)	0,133	0,133	0,000(0%)
MPC 2,2%	0,0357	0,0293	-0,0064(-17,9%)	0,131	0,120	-0,011(-8,4%)
MPC 4,4%	0,0560	0,0738	+0,0178(+31,8%)	0,143	0,166	+0,023(+16,1%)

4.2. Növekedési dinamika vizsgálata optikai denzitás méréssel

A három probiotikus törzs (*Bifidobacterium longum* DSM 16603, *Lactobacillus plantarum* 299v és *Lactobacillus acidophilus* LA-5) növekedési kinetikáját mikrotiter-lemezes optikai denzitás (OD₆₀₀) mérésekkel is vizsgáltam 30 perces időintervallumokban 24 órán át, 37°C hőmérsékleten. A mérés technika lehetővé tette a fermentáció folyamatos követését és a növekedési görbék részletes elemzését (2-4. ábrák). A kapott adatok alapján meghatároztam mindhárom törzs maximális fajlagos szaporodási sebességét (μ) és generációs idejét (t_g) különböző MPC-koncentrációk mellett, melyeket a 4. táblázatban mutatok be.

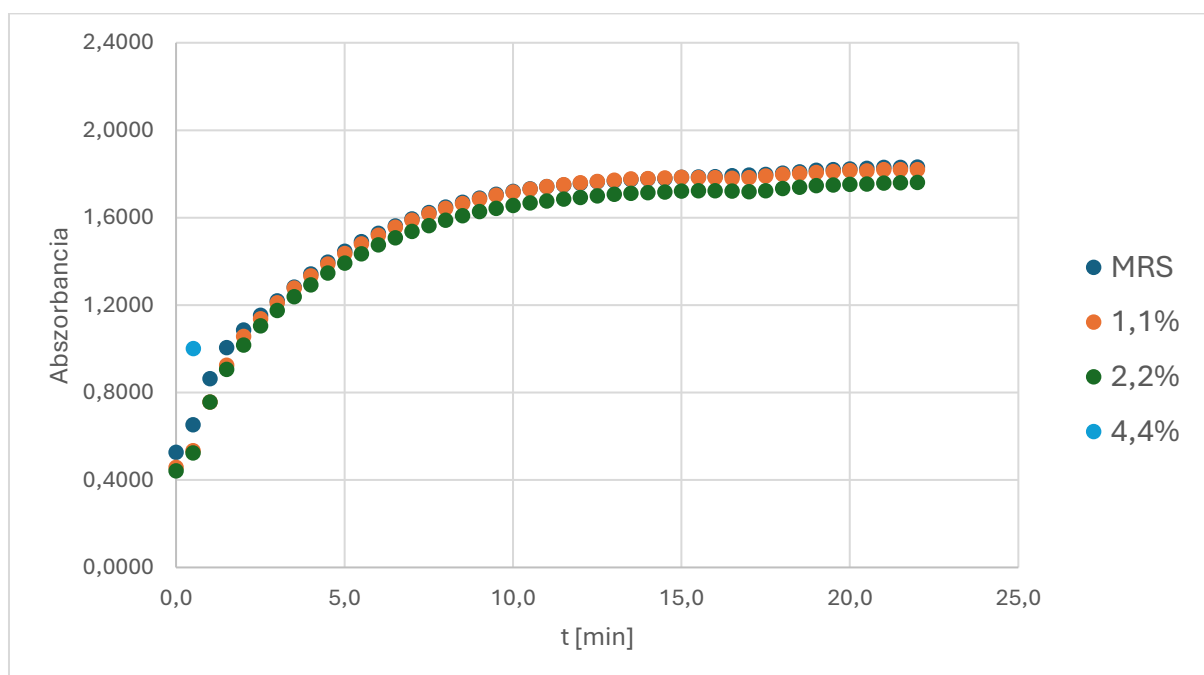
3. ábra: *Lactobacillus acidophilus* LA-5 növekedési görbéi (OD₆₀₀) különböző MPC-koncentrációk jelenlétében 24 órás fermentáció alatt.

(Forrás: Saját szerkesztés)



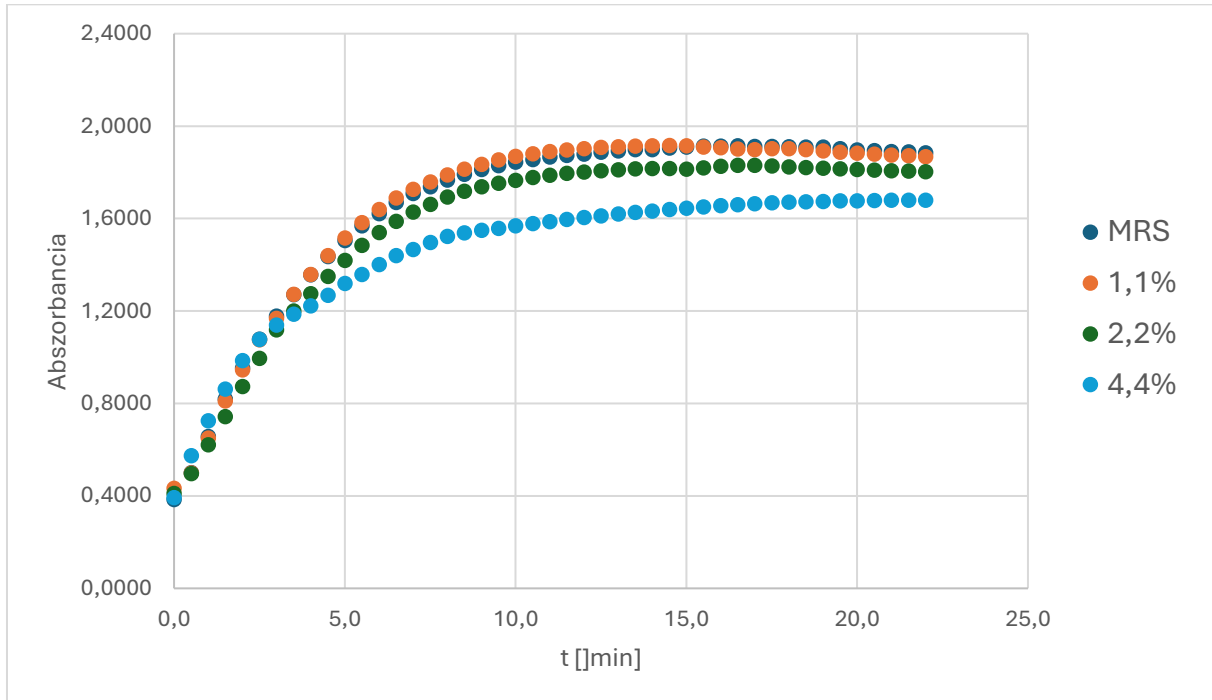
4. ábra: *Lactobacillus plantarum* 299v növekedési görbéi (OD₆₀₀) különböző MPC-koncentrációk jelenlétében 24 órás fermentáció alatt.

(Forrás: Saját szerkesztés)



5. ábra: *Bifidobacterium longum* DSM 16603 növekedési görbéi (OD₆₀₀) különböző MPC-koncentrációk jelenlétében 24 órás fermentáció alatt.

(Forrás: Saját szerkesztés)



A kinetikai adatok alapján jól látható, hogy a három törzs eltérő módon reagált az MPC-tartalmú táptalajokra. *Bifidobacterium longum* DSM 16603 esetében az MPC minden koncentrációban csökkentette a fajlagos szaporodási sebességet ($\mu = 0,340 \text{ h}^{-1}$ MRS-ben, míg $0,297\text{--}0,320 \text{ h}^{-1}$ MPC-tartalmú közegben) és növelte a generációs időt (2,039 h-ról 2,165–2,335 h-ra). Ez az eltérés konzisztensen megfigyelhetővé teszi a sejtmembrán-kötött proteáz enzim hiányának hatását. A bifidobaktériumok nem rendelkeznek sejt-felszíni proteináz aktivitással, ezért az MPC bonyolult fehérjestrúktúráit nem tudják elég hatékonyan feltölteni a hasznos peptidek és aminosavak eléréséhez (Sodini et al., 2002; Underwood et al., 2015). Ennek eredményeként a tápanyag-felhasználás limitált marad, függetlenül az MPC koncentrációjától. A bifidobaktériumok növekedési üteme egyértelműen akkor javul, ha a közeg már előzetesen hidrolizált peptideket és szabad aminosavakat tartalmaz optimális mennyiségben (Underwood et al., 2015).

6. táblázat: A fajlagos szaporodási sebesség (μ) és generációs idő értékei három probiotikus törzs esetén különböző MPC-koncentrációjú tápközegekben

(Forrás: Saját szerkesztés)

Törzs	Tápközeg	μ (h^{-1})	Generációs idő (h)
<i>L. acidophilus</i> LA-5	MRS	0,280	2,475
	MPC 1,1%	0,311	2,227
	MPC 2,2%	0,312	2,220
	MPC 4,4%	0,276	2,513
<i>L. plantarum</i> 299v	MRS	0,320	2,164
	MPC 1,1%	0,389	1,784
	MPC 2,2%	0,387	1,793
	MPC 4,4%	0,323	2,145
<i>B. longum</i> DSM 16603	MRS	0,340	2,039
	MPC 1,1%	0,320	2,165
	MPC 2,2%	0,313	2,215
	MPC 4,4%	0,297	2,335

Lactobacillus plantarum 299v mutatta a legnagyobb fajlagos szaporodási sebességet az MPC 1,1% és 2,2% koncentráció mellett ($\mu = 0,389 h^{-1}$ és $\mu = 0,387 h^{-1}$), valamint a legrövidebb generációs időket (1,784 és 1,793 h). Ez a törzs kifejezetten jól hasznosította e mérsékelt MPC-koncentrációkat, ahol a fehérje-komponensek kellően hozzáférhetőek voltak a törzs erős proteolitikus enzimjeinek számára. Azonban az MPC 4,4%-os koncentrációnál a növekedési ütem visszaesett ($\mu = 0,323 h^{-1}$), valószínűleg a magas fehérjekoncentráció által kiváltott ozmotikus stressz miatt. A *Lactobacillus* nemzetség tagjai kifejezetten jól alkalmazkodnak a tejfehérje-alapú szubsztrátokhoz, mivel rendelkeznek hatékony proteolitikus enzimmal.

és képesek az MPC-ben természetesen előforduló vagy fermentáció során felszabaduló peptideket és aminosavakat hasznosítani.

Lactobacillus acidophilus LA-5 kiegyensúlyozott és stabil növekedést mutatott minden MPC-koncentráció mellett. A fajlagos szaporodási sebesség az MPC 1,1% és 2,2% esetén javult ($\mu = 0,311\text{--}0,312\text{ h}^{-1}$), míg a generációs idő csökkent (2,220–2,227 h) az MRS kontrollhoz képest (2,475 h). A 4,4%-os MPC tartalmú tápközegnél ugyan visszaesés volt megfigyelhető ($\mu = 0,276\text{ h}^{-1}$), de ez még mindig közelített a kontroll értékéhez. Az LA-5 törzs jól alkalmazkodik a változó fehérjekoncentrációjú közegekhez, amely szerint a 2,2%-os MPC tartalmú közeg optimálisabbnak bizonyultak a növekedés szempontjából.

A továbbiakban a *L. acidophilus* LA-5 törzset választottam a részletes funkcionális vizsgálatokhoz, mivel ez a törzs stabil növekedést mutatott az összes vizsgált MPC-koncentráció mellett, amely biztosítja az eredmények reprodukálhatóságát és megbízhatóságát. Míg a *L. plantarum* 299v gyorsabban szaporodott az 1,1% és 2,2% MPC-nél (1,784–1,793 h generációs idővel), csökkent teljesítménye a 4,4%-nál zajt vezetne be a dózis-függőség vizsgálatára. Az LA-5 sokoldalú adaptációja a különböző MPC-tartalmakhoz biztosítja, hogy az MPC-koncentráció okozta hatások tisztán értelmezhetők maradnak anélkül, hogy az egyes törzs-specifikus limitációk zavaróan hatnak. *B. longum* DSM 16603 egyértelműen szignifikánsan lassabban növekedett az MPC-tartalmú közegekben, így a további vizsgálatokba nem vontam be.

4.3. Funkcionális tulajdonságok vizsgálata *L. acidophilus* LA-5 törzs MPC fermentációja során

Az első fermentációs kísérlet eredményei alapján az *L. acidophilus* LA-5 törzssel ismételtén végrehajtottam egy fermentációt, mivel ez a törzs mutatta a legrobosztusabb növekedést és legkevésbé volt érzékeny az MPC változó koncentrációira. A megerősítő vizsgálat során minden mintavételi időpontban (0, 3, 6, 9, 15, 18, 21, 24 és 40 óra) rögzítettem az élősejtszámot és a pH-értékeket, amely lehetőséget biztosított a savtermelési kinetika követésére és a különböző kísérleti összeállítások hatásának összehasonlítására.

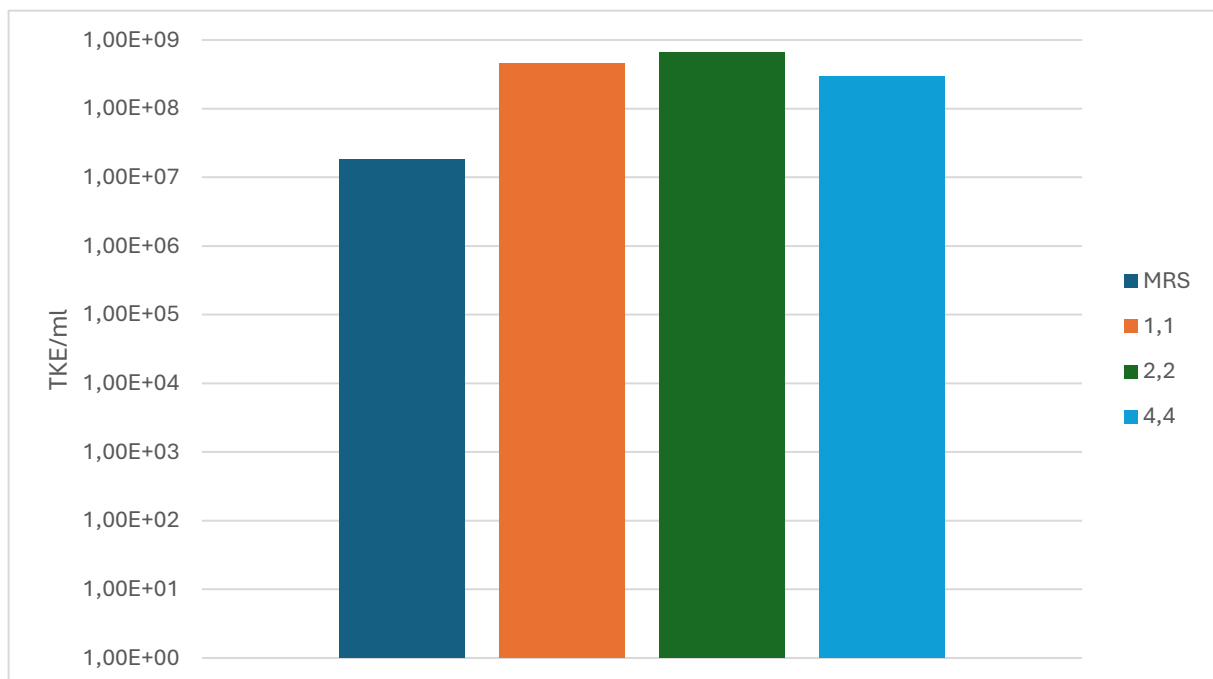
4.3.1. Élősejtszám alakulása

A telepszámlálási eredmények azt mutatták, hogy a második fermentációban szignifikánsan magasabb végső sejtszámokat értem el minden MPC-koncentráció mellett a kontroll MRS táptalajhoz viszonyítva (6. ábra). A kontroll MRS táptalajban $1,80 \times 10^7$ TKE/ml végső

sejtszámot mértem, míg az MPC-tartalmazó táptalajokban a következő értékeket kaptam: MPC 1,1% esetén $4,50 \times 10^8$ TKE/ml (25-szörös növekedés az MRS-hez képest), MPC 2,2% mellett $6,60 \times 10^8$ TKE/ml (36,7-szeres növekedés), és MPC 4,4%-nál $3,00 \times 10^8$ TKE/ml (16,7-szeres növekedés).

A 2,2%-os MPC-koncentráció biztosította a legnagyobb sejtszámot mind az első, mind a második fermentációban. Ez az optimális arány a tápanyag-ellátás és az ozmotikus nyomás közötti egyensúlynak köszönhető – mely megfigyelés összhangban van Meng és munkatársai (2021) kutatási eredményeivel, akik kimutatták, hogy a 1,5–2,0%-os kazein-hidrolizátumok biztosítják a legrövidebb fermentációs időt és a legnagyobb élősejtszámot az LA-5 törzs számára.

6. ábra: *Lactobacillus acidophilus* LA-5 élősejtszámának alakulása 40 órás fermentáció után különböző MPC-koncentrációk jelenlétében (második fermentáció, megerősítő kísérlet). (Forrás: Saját szerkesztés)



A 4,4%-os MPC-koncentráció ezzel szemben csökkent sejtszámot eredményezett mindkét kísérletben, amely egyértelműen arra utal, hogy létezik egy koncentráció-küszöb: a túlzott fehérjetartalom metabolikus terhelést hoz létre a sejtek számára. Ez a megfigyelés összhangban van Nasri és munkatársai (2022) által leírt jelenséggel, akik megállapították, hogy a nagy fehérje-koncentrációk ozmotikus stresszt és csökkent tápanyag-hozzáférhetőséget okoznak a

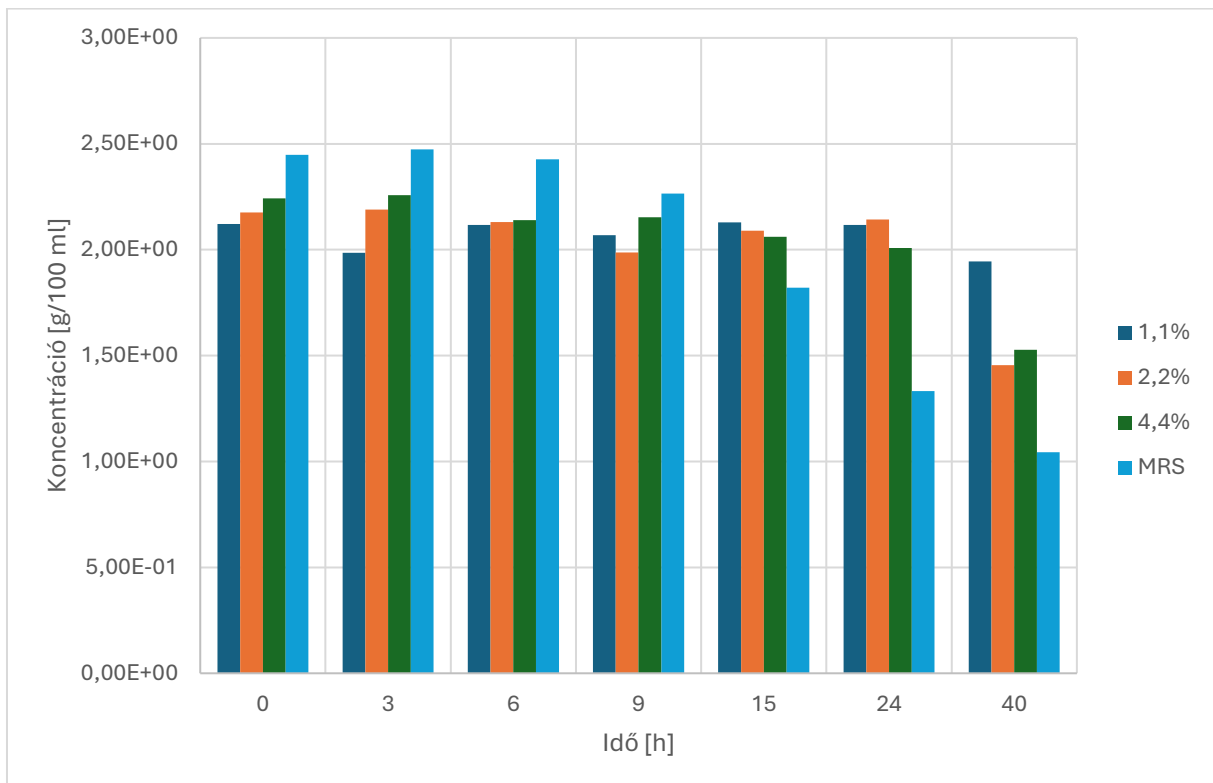
probiotikus *Lactobacillus* törzsek számára. Ilyen körülmények között a sejtek energiaigényes adaptációs válaszaival aktiválódnak, amelyek a növekedési kapacitás rovására mennek.

4.3.2. Glükózkoncentráció alakulása *L. acidophilus* LA-5 fermentáció során

A fermentáció során a *Lactobacillus acidophilus* LA-5 törzs szénhidrát-felhasználásának nyomon követésére HPLC-módszert alkalmaztam. A glükózkoncentráció változását 0, 3, 6, 9, 15, 24 és 40 órás időpontokban mértem az MRS kontroll és az MPC (1,1%, 2,2%, 4,4%) táptalajokban. A glükózfogyást g/100 ml mértékegységben fejeztem ki, kalibráció alapján (7. ábra).

7. ábra: A glükózfogyás dinamikája *Lactobacillus acidophilus* LA-5 fermentációja során különböző MPC-tartalmú táptalajokban.

(Forrás: Saját szerkesztés)



A fermentáció során minden táptalajban egyértelműen megfigyelhető volt a glükóz fogyás, ami *L. acidophilus* LA-5 aktív metabolikus működését jelzi. A 7. ábra alapján az MRS kontroll táptalajban szaporított *L. acidophilus* LA-5 mutatta a legintenzívebb glükóz hasznosítást. A kezdeti 2,45 g/100 ml koncentrációhoz képest a fermentáció előrehaladtával folyamatosan csökkent a glükóz mennyisége, és a 40. órára 1,04 g/100 ml-re esett vissza, amely 57,6%-os csökkenést jelent. Ez az eredmény összhangban van az MRS komplex tápanyag-összetételével,

amely optimális feltételeket biztosít a probiotikus törzsek számára, elősegítve a hatékony szénhidrát-metabolizmust. A *Lactobacillus* törzsek homolaktikus fermentáció útján 1 mól glükózból ideálisan 2 mól tejsavat képesek termelni glikolízis révén, ami szoros összefüggést mutat a glükózfogyás és a pH-csökkenés között (Wang et al., 2021).

Az MPC-tartalmú táptalajokban szaporított mikroorganizmusok glükózfogyása koncentrációfüggő volt. Az MPC 2,2%-os és 4,4%-os tápközegek esetén a glükózkoncentráció folyamatos csökkenést mutatott a fermentáció során: a 2,2%-os MPC esetében 2,18 g/100 ml-ről 1,46 g/100 ml-re (-33,0%), míg a 4,4%-os MPC esetén 2,24 g/100 ml-ről 1,53 g/100 ml-re (-31,7%) esett vissza a 40. órára. Ez azt jelzi, hogy ezek az MPC-koncentrációk megfelelő tápanyag-környezetet biztosítottak a törzs aktív metabolizmusához (Meng et al., 2021). Az MPC 1,1% esetében azonban lassabb ütemű glükózfogyás volt megfigyelhető (-8,5%, 1,94 g/100 ml a 40. órában), különösen a fermentáció korai szakaszában. Ez azt sugallja, hogy az alacsonyabb MPC-koncentráció nem biztosított elegendő nitrogénforrást a hatékony szénhidrát-hasznosításhoz, ami lassabb metabolikus aktivitást eredményezett.

4.3.2.1. A glükózfogyás, pH-csökkenés és sejtszám összefüggései

A glükózfogyás dinamikája szorosan korrelál a korábban bemutatott növekedési és pH-változási eredményekkel (4.3. alfejezet). Az MPC 2,2%-os koncentráció esetén a legmagasabb végső sejtszám ($6,60 \times 10^8$ TKE/ml, 36,7-szeres növekedés) együtt járt intenzív glükózfogyással (körülbelül 50%-os csökkenés) és erőteljes pH-csökkenéssel ($\Delta\text{pH} = 2,06$; 6,00-ről 3,94-re). Ez az eredmény egyértelműen mutatja, hogy az MPC 2,2% optimális egyensúlyt biztosított a sejtnövekedés, a szénhidrát-metabolizmus és a savtermelés között.

Az MPC 1,1%-nál tapasztalt legnagyobb pH-csökkenés ($\Delta\text{pH} = 2,26$; 6,21-ről 3,95-re) kisebb végső sejtszámmal ($4,50 \times 10^8$ TKE/ml) és lassabb glükózfogyással párosult, ami arra utal, hogy ebben a koncentrációban a sejtek ugyan képesek voltak intenzív savtermelésre, de a korlátozott nitrogénforrás gátolta a maximális biomassza-növekedést. Meng és munkatársai (2021) hasonló jelenséget írtak le *L. acidophilus* LA-5 esetében, amikor a nitrogénforrás (kazein-hidrolizátum) alacsony koncentrációja lelassította a sejtnövekedést, miközben a glükózfogyás továbbra is folyt, bár csökkent hatékonysággal.

A 4,4%-MPC tartalmú tápközegben a glükózfogyás ugyan intenzív volt (körülbelül 45%-os csökkenés), de a végső sejtszám ($3,00 \times 10^8$ TKE/ml) elmaradt az MPC 2,2%-tól. Ez összhangban van azzal a megfigyeléssel, hogy a túl magas fehérjekoncentráció ozmotikus stresszt okozhat, amely a sejtnövekedést korlátozza, de nem gátolja teljes mértékben a

metabolikus aktivitást. A szénhidrát-hasznosítás kinetikája általánosságban jól korrelál a tejsavbaktériumok biomassza növekedésével és szénhidrát-fermentációs produktumaival (pl. tejsav- és ecetsav-termelés).

Az eredmények alapján megállapítható, hogy az MPC-kiegészítés hatékonyan alkalmazható alternatív nitrogénforrásként a probiotikus fermentációkban, és a megfelelő koncentráció megválasztásával (2,2%) a hagyományos MRS táptalajhoz közel álló metabolikus aktivitás és sejtnövekedés érhető el. A glükózfogyás, a pH-csökkenés és a sejtszám-növekedés együttes vizsgálata egyértelműen alátámasztja, hogy *L. acidophilus* LA-5 törzs robusztus és hatékony probiotikum MPC-alapú tápközegben is.

4.3.3. pH alakulása a *L. acidophilus* LA-5 fermentáció során

A pH-csökkenés mértéke és dinamikája fontos indikátor volt a mikroorganizmus metabolikus aktivitásának és a fermentáció sikerességének értékelésében. A 40 órás fermentáció utáni végső pH-értékek és az indulóértékek közötti különbséget (ΔpH) a 7. táblázat foglalja össze.

7. táblázat: *Lactobacillus acidophilus* LA-5 fermentáció kezdeti és végső pH-értékei, valamint a pH-változás mértéke (ΔpH) különböző tápközegekben

(Forrás: Saját mérési adatok alapján)

Táptalaj	Kezdeti pH	pH (40 óra)	ΔpH
MRS	6,27	4,71	1,56
MPC 1,1%	6,21	3,95	2,26
MPC 2,2%	6,00	3,94	2,06
MPC 4,4%	6,03	3,94	2,09

A legnagyobb mértékű kémhatás változást az 1,1%-os MPC-táptalajnál mértem ($\Delta\text{pH} = 2,26$), ahol a pH 6,21-ről 3,95-re csökkent, míg a kontroll MRS esetében a legkisebb pH-csökkenést tapasztaltam ($\Delta\text{pH} = 1,56$; 6,27-ről 4,71-re). Az MPC-tartalom növelése összességében fokozta a savtermelést a kontrollhoz képest, ami a tejfehérjékből felszabaduló peptidek és aminosavak gyorsabb metabolizálhatóságát tükrözi.

Az 1,1%-os MPC optimálisnak bizonyult a legnagyobb ΔpH -hoz, míg a 2,2% (pH 6,00-ról 3,94-re, $\Delta\text{pH} = 2,06$) és 4,4% MPC (pH 6,03-ról 3,94-re, $\Delta\text{pH} = 2,09$) hasonló mértékű kémhatás-csökkenést eredményezett. Ez jelzi, hogy az emelkedő fehérjetartalom nem jár arányos savtermelés-növekedéssel, hanem metabolikus korlátok léphetnek fel.

A pH-változások korrelálnak a sejtszámok alakulásával: míg az 1,1%-os MPC-nél a legnagyobb pH-csökkenés ($\Delta\text{pH} = 2,26$) mellett 25-szörös sejtnövekedést tapasztaltam ($4,50 \times 10^8$ TKE/ml), addig a 2,2%-os MPC esetén a legmagasabb végső sejtszám ($6,60 \times 10^8$ TKE/ml, 36,7-szeres növekedés) együtt járt valamivel mérsékeltebb pH-csökkenéssel ($\Delta\text{pH} = 2,06$). Ez arra utal, hogy a nagyobb sejtszám nem feltétlenül jár intenzívebb savasodással, hanem a metabolikus aktivitás és a sejtosztódás dinamikája eltérő lehet az optimális MPC-koncentrációknál. Shah és munkatársai (2000) szintén megfigyelték, hogy az *L. acidophilus* törzsek tejfehérje-alapú szubsztrátokban a sejtnövekedés és a savtermelés nem mindig arányosan változik, különösen a stacioner fázis elején.

4.3.4. Antioxidáns aktivitás eredményei és kiértékelése

A fermentáció során képződő bioaktív peptidek és fenolos vegyületek antioxidáns kapacitását összes fenolos tartalom (Total Phenolic Content, TPC) mérésével vizsgáltam különböző időpontokban (0, 3, 6, 9, 15, 24 és 40 óra) *L. acidophilus* LA-5 törzs fermentációja során. A fermentáció során mért összes fenolos komponens értékek időbeli alakulását, galluszsav-egyenértékben kifejezve, a 8. táblázat foglalja össze, valamint tartalmazza a relatív antioxidáns változást (%).

Az eredmények alapján az MRS kontroll táptalaj mutatta a legnagyobb TPC-növekedést (9,3%) a fermentáció során, a kezdeti 82,0 mg GAE/100 ml értékről 89,6 mg GAE/100 ml-re emelkedve. Ez arra utal, hogy az MRS komplex összetétele (élesztőkivonat, peptonok) eleve tartalmaz olyan fenolos és peptid komponenseket, amelyek antioxidáns tulajdonságokkal rendelkeznek, és a fermentáció során ezek mobilizálódtak vagy átalakultak. A joghurtfermentáció során tejsavbaktériumok (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus* fajok) jelenlétében az aminosavak (különösen tirozin) fenolos oldalláncai hozzájárulhatnak a TPC-növekedéshez.

8. táblázat: *Lactobacillus acidophilus* LA-5 fermentátumok összes fenolos tartalma (TPC) galluszsav-egyenértékben a fermentáció elején és végén, valamint a relatív antioxidáns változás (Forrás: Saját mérési adatok alapján)

Tápközeg	Összes fenolos komponens értékek (mg GAE/100 ml)							Relatív antioxidáns változás (%)
	0 h	3 h	6 h	9 h	15 h	24 h	40 h	
MRS	82,0	80,5	106,5	86,7	90,0	79,0	89,6	+9,3
MPC 1,1%	37,3	35,1	38,3	31,8	49,4	39,0	38,3	+2,7
MPC 2,2%	49,1	47,3	58,8	42,1	51,3	55,2	49,5	+0,8
MPC 4,4%	76,0	94,8	76,8	65,2	74,4	67,8	53,6	

Az MPC-tartalmú táptalajok esetében a relatív antioxidáns változás lényegesen alacsonyabb volt. Az MPC 1,1% és MPC 2,2% esetén a TPC gyakorlatilag stagnált (+2,7% és +0,8%), a végső értékek 38,3 és 49,5 mg GAE/100 ml voltak. Ez arra utal, hogy a fermentáció során képződő fenolos és antioxidáns peptidek mennyisége ebben a koncentrációban nem volt elegendő ahhoz, hogy kimutatható növekedést eredményezzen az összes fenolos tartalomban. Gan és munkatársai (2016) azt találták, hogy a fermentáció során a fenolos tartalom növekedése hatékonyabb, ha külső fenolos vegyületeket adnak hozzá, amelyek felszabadulása proteolitikus aktivitással párosul.

Az MPC 4,4% esetében negatív relatív változást (−29,5%) tapasztaltam, ahol a TPC 76,0-ról 53,6 mg GAE/100 ml-re csökkent. A fenolos komponensek tartalmának csökkenése a fermentáció során bekövetkező oxidatív folyamatokra vagy a fenolos vegyületek metabolikus átalakulására/lebomlására utalhat. A tejfermentációk során bizonyos fenolos vegyületek degradálódhatnak, különösen akkor, ha a sejtnövekedés gyorsan zajlik, és a mikrobiális

metabolizmus intenzív oxidatív folyamatokat generál, amely redox-aktív peptidek és intermedier vegyületek képződésében nyilvánul meg.

Az eredmények azt mutatják, hogy az MPC-kiegészítés önmagában nem növelte szignifikánsan a fermentátum antioxidáns aktivitását a vizsgált körülmények között. Ennek oka lehet, hogy *L. acidophilus* LA-5 törzs proteolitikus aktivitása nem volt elégséges a tejfehérjék olyan mértékű lebontásához, amely magas fenolos tartalmat és antioxidáns aktivitású peptideket eredményezett volna. Az *L. acidophilus* fermentációja során külső fenolos forrás (pl. szőlőmag vagy polifenol-gazdag kivonat) jelenléte segíthet a jelentős antioxidáns aktivitás eléréséhez fermentált tejben. Pihlanto (2006) összegző tanulmánya alapján a tejfehérje-eredetű antioxidáns peptidek hatékonysága erősen függ a proteázok specificitásától és a fermentációs körülményektől, különösen a hőmérséklettől és a fermentációs időtartamtól.

4.4. Antimikrobiális aktivitás alakulása

Lactobacillus acidophilus LA-5 törzssel fermentált minták funkcionális tulajdonságainak egyik legfontosabb eleme a patogén mikroorganizmusokkal szembeni gátló képesség. Ezt a hatást agar-lyuk diffúziós módszerrel vizsgáltam öt különböző, élelmiszer-biztonsági szempontból releváns kórokozó törzssel és tesztorganizmussal szemben: *Escherichia coli* ATCC 8739, *E. coli* O157:H7, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae* és *Listeria innocua*. A fermentáció során mintákat 3, 6, 9, 15, 24 és 40 órás időpontokban vettem, és értékeltem azok antimikrobiális hatékonyságát.

Az antimikrobiális aktivitás értékelésére kidolgozott indexeket (Korrigált Gátlási Átmérő, Gátlási Közelítés és Kombinált Hatékonysági Index) a 3. Anyagok és módszerek fejezetben részletesen ismertettem. Ezek az indexek lehetővé tették a gátlási hatás kiterjedésének és intenzitásának objektív összehasonlítását. A Kombinált Hatékonysági Index (KHI) alapján azonosítottam a leghatékonyabb antimikrobiális aktivitást mutató mintákat. A 9. táblázat összefoglalja, hogy az egyes kórokozók esetében melyik kísérleti beállítás (táptalaj és fermentációs idő) bizonyult a leghatékonyabbnak.

9. táblázat: A legmagasabb Kombinált Hatékonysági Indexet (KHI) elérő *L. acidophilus* LA-5 fermentátumok az egyes patogén törzsekkel szemben

(Forrás: Saját mérési adatok alapján)

Kórokozó	Táptalaj	Fermentációs idő (h)	KG (mm)	GK (mm)	KHI
<i>E. coli</i> ATCC 8739	MRS	24	10,0	6,0	1,43
	MPC 1,1%	—	—	—	—
	MPC 2,2%	—	—	—	—
	MPC 4,4%	—	—	—	—
<i>E. coli</i> O157:H7	MRS	24	11,0	9,0	1,10
	MPC 1,1%	40	5,0	1,0	2,50
	MPC 2,2%	—	—	—	—
	MPC 4,4%	—	—	—	—
<i>E. faecalis</i>	MRS	40	12,0	4,0	2,40
	MPC 1,1%	—	—	—	—
	MPC 2,2%	—	—	—	—
	MPC 4,4%	—	—	—	—
<i>E. cloacae</i>	MRS	40	12,0	0,0	12,00
	MPC 1,1%	—	—	—	—
	MPC 2,2%	—	—	—	—
	MPC 4,4%	—	—	—	—
<i>L. innocua</i>	MRS	24	11,0	5,0	1,83
	MPC 1,1%	—	—	—	—
	MPC 2,2%	—	—	—	—
	MPC 4,4%	—	—	—	—

A fermentáció során képződő savak (tejsav, ecetsav), bioaktív peptidok és egyéb antimikrobiális vegyületek (hidrogén-peroxid, esetleg bakteriocinek) a különböző táptalajokban eltérő mértékben gátolták a patogének növekedését. Az eredmények alapján a következő megállapítások tehetők.

A legkiemelkedőbb antimikrobiális hatást *Enterobacter cloacae* ellen mértem, ahol az MRS fermentátum 40 óra után KHI = 12,00 értéket ért el. Ez azt jelenti, hogy a gátlási zóna közvetlenül a lyuk peremétől (GK = 0) kezdődött, és 12 mm-es kiterjedésű volt, ami azonnali és erőteljes gátlást jelez. Az *Lactobacillus acidophilus* törzseknél hasonló nagyságrendű gátlási zónákat (10-14 mm) figyeltek meg Gram-negatív baktériumokkal (*E. coli*, *Pseudomonas*) szemben, különösen a tejsav és ecetsav szinergikus hatásának köszönhetően (Savadogo et al., 2006). *Enterococcus faecalis* esetében szintén jelentős gátlást tapasztaltam (KHI = 2,40, MRS, 40 h), ami az MRS táptalaj komplex összetételének és a hosszabb fermentációs időnek köszönhető. Az *L. acidophilus* antimikrobás anyagai koncentrációfüggő módon gátolják a Gram-pozitív patogéneket, és a maximális gátlási hatás a fermentáció exponenciális fázisban és a stacioner fázisban jelentkezik (18-24 órás fermentációs idő után) (Savadogo et al., 2006), amely összhangban van saját eredményeimmel.

Az *E. coli* O157:H7 törzs esetében az MPC 1,1%-os fermentátum 40 óra után mutatta a legmagasabb KHI értéket (2,50), ami arra utal, hogy az MPC-tartalmú közegben képződő antimikrobiális vegyületek specifikusan hatékonyak voltak ez ellen a patogén ellen. A *Lactobacillus* fermentátumok gátlási spektruma táptalajfüggő, és bizonyos patogének (pl. *E. coli* O157:H7) esetében a tejfehérje-alapú közegek kedvezőbbek.

Az MRS fermentátumok általában magasabb KG értékeket (nagyobb gátlási kiterjedést) mutattak, de az 1,1% MPC tartalmú tápközegben felszaporított probiotikum is jelentős gátlást mutatott több patogén ellen, különösen *E. coli* O157:H7 esetében. Az eredmények azt mutatják, hogy a fermentáció során képződő vegyületek antimikrobiális hatása kórokozó-függő, és a tejfehérje-koncentráció jelenléte módosítja az aktivitás spektrumát.

Az MPC-alapú táptalajok alternatív lehetőséget jelentenek specifikus patogének elleni fermentátumok fejlesztésére, míg az MRS továbbra is széles spektrumú antimikrobiális hatékonyságot biztosít. A bakteriocin-termelő probiotikus tejsavbaktériumok képesek modulálni a bélflórát és gátolni számos patogént (pl. *Listeria*, *Clostridium*, *Salmonella*) (Guo et al., 2023), amely alátámasztja *L. acidophilus* LA-5 potenciális alkalmazását funkcionális élelmiszerekben (Patel, 2015, IPA-Europe 2017).

5. Következtetések és javaslatok

Jelen szakdolgozat elsődleges célja az volt, hogy feltárja egy kereskedelmi forgalomban kapható tejfehérje-koncentrátum (MPC) hatását három, biotechnológiai szempontból releváns probiotikus baktérium törzsrre: *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Lactobacillus plantarum* 299v és *Bifidobacterium longum* DSM 16603. Az elvégzett vizsgálatok nyomán egyértelműen kimutatható, hogy az MPC koncentrációja és a probiotikus törzsek metabolikus tulajdonságai között szoros, reprodukálható összefüggés áll fenn, amely alapvetően meghatározza a fermentációs teljesítményt, a bioaktív vegyületek képződését és a funkcionális tulajdonságokat.

Törzsspecifikus válaszok az MPC-kiegészítésre

A kutatás során megfigyeltem, hogy a három probiotikus törzs jelentősen eltérő növekedési mintázatot mutatott az MPC jelenlétében. A *Lactobacillus acidophilus* LA-5 törzs bizonyult a legrobustusabbnak és legjobban adaptálhatónak az MPC-alapú tápközeghez, különösen az MPC 2,2%-os koncentrációjának alkalmazásával, amely egyenletes növekedést (72%-os sejtszám-növekedés a kontrollhoz képest), intenzív savtermelést és szignifikáns glükózfogyást eredményezett. Ezek az eredmények az LA-5 törzset kiváló jelöltté teszik az MPC-alapú probiotikus termékek ipari alkalmazásához, valamint olyan szinbiotikus formulációk fejlesztéséhez, ahol a tejfehérje-koncentrátum egyszerre tölt be tápanyag- és prebiotikus szerepet. Ezzel szemben a *Lactobacillus plantarum* 299v még nagyobb növekedési potenciált mutatott az MPC-alapú közegben, az MPC 2,2%-nál 153,1%-os sejtszám-növekedéssel ($9,72 \times 10^9$ TKE/ml). A *Bifidobacterium longum* DSM 16603 növekedése azonban minden MPC-koncentrációban elmaradt a kontroll MRS táptalajhoz képest. Ez utóbbi megfigyelés alátámasztja a *Bifidobacterium* nemzetség korlátozott proteolitikus kapacitásáról való ismereteket, és felhívja a figyelmet a törzs-specifikus tápanyag-szükségletek fontosságára.

Funkcionális tulajdonságok: antioxidáns és antimikrobiális hatás

Az összes fenolos tartalom (TPC) mérések kimutatták, hogy az MRS kontroll táptalajban és az MPC 2,2%, valamint 4,4% koncentrációkban a fermentáció során nőtt a fenolos vegyületek koncentrációja (9,3%, 2,7%, illetve 5,5%-os növekedés). Ez azt jelzi, hogy az MPC fehérjefrakciói bioaktív peptidek prekursorait tartalmazzák, amelyek a fermentáció során felszabadulnak. Az MPC 1,1% koncentrációban azonban a TPC gyakorlatilag stagnált, amely azt sugallja, hogy a korlátozott nitrogénforrás korlátozta a bioaktív peptidek képződésének mértékét.

Az antimikrobiális aktivitás vizsgálatok kimutatták, hogy a *Lactobacillus acidophilus* LA-5 fermentátumai széles spektrumú gátló hatást fejtenek ki különböző patogén mikroorganizmusokkal szemben. A leghatékonyabb antimikrobiális aktivitást az MRS kontroll táptalajban, 24–40 órás fermentációs időpontokban mutattam ki, különösen *Enterobacter cloacae* (KHI = 12,00) és *Enterococcus faecalis* (KHI = 2,40) esetében. Az MPC-tartalmú táptalajok közül az MPC 1,1% bizonyult a legígéretesebbnek *E. coli* O157:H7 ellen (KHI = 2,50), amely arra utal, hogy az alacsonyabb fehérjekoncentráció intenzívebb antimikrobiális metabolit-termelésre serkenti a sejteket.

Az MPC prebiotikus potenciáljának értékelése

Az eredmények alapján megállapítható, hogy az MPC hatékonyan alkalmazható alternatív nitrogénforrásként probiotikus fermentációkban, és az MPC 2,2%-os koncentrációja optimális egyensúlyt biztosít a sejtnövekedés, a metabolikus aktivitás és a bioaktív vegyületek képződése között. Ez a koncentráció lehetővé teszi funkcionális élelmiszerek és szinbiotikus termékek kifejlesztését, amelyekben az MPC egyszerre tölt be tápanyag- és prebiotikus funkciókat. A törzsspecifikus válaszok ismerete elengedhetetlen a célzott probiotikus alkalmazások tervezéséhez. Az eredmények azt mutatják, hogy mind a *Lactobacillus acidophilus* LA-5, mind a *Lactobacillus plantarum* 299v jól alkalmazható az MPC-alapú tápközegben.

Gyakorlati alkalmazhatóság és jövőbeni kutatási irányok

Az eredmények alapján az MPC-alapú fermentáció ígéretes lehetőséget kínál funkcionális tejtermékek fejlesztésében. Az MPC 2,2%-os koncentrációja ajánlott az ipari fermentációkban, mivel biztosítja az optimális bioterméshozamot és a bioaktív komponensek termelését. A *Bifidobacterium* törzsek korlátozott proteolitikus kapacitása szempontjából ígéretes megoldás lehet a vegyes (konzorciális) fermentáció alkalmazása, ahol a *Lactobacillus* törzsek proteolitikus aktivitása előkészíti a szubsztrátumot a bifidobaktériumok számára. Ennek alternatívájaként az MPC enzimatiszta előkezelésének vizsgálata szükséges, amely javíthatja a *Bifidobacterium* törzsek számára történő hasznosíthatóságot. Az antimikrobiális aktivitás szempontjából külön kutatásokra van szükség a specifikus bioaktív vegyületek azonosítására és jellemzésére (bakteriocinek, szerves savak, peptidek). Az olyan *in vivo* vizsgálatok, mint az állati modelleken vagy humán klinikai vizsgálatokon végzett elemzések, megalapozhatnák az MPC-alapú probiotikus termékek klinikai alkalmazását.

6. Összefoglalás

Jelen szakdolgozat célja volt egy kereskedelmi forgalomban kapható tejfehérje-koncentrátum (MPC) hatásának vizsgálata három probiotikus baktérium törzsrre: *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Lactobacillus plantarum* 299v és *Bifidobacterium longum* DSM 16603. A kutatás során különböző MPC-koncentrációkat (1,1%, 2,2%, 4,4%) alkalmaztam módosított MRS táptalajokban, és értékeltem a sejtnövekedést, metabolikus aktivitást és funkcionális tulajdonságokat.

Az eredmények egyértelműen kimutatták az MPC törzsfüggő hatásait. A *Lactobacillus plantarum* 299v esetében az MPC 2,2%-os koncentrációja 53,1%-kal növelte a végső sejtszámot, kiválóan alátámasztva a törzs sokoldalú proteolitikus képességeit. A *Bifidobacterium longum* DSM 16603 növekedése minden MPC-koncentrációban elmaradt a kontroll táptalajhoz képest, mely a korlátozott proteolitikus kapacitás jelenlétét bizonyította. A *Lactobacillus acidophilus* LA-5 bizonyult a legrobosztus és legjobban adaptálható törzsnek, amely az MPC 2,2%-os koncentrációban 72%-os sejtnövekedést, intenzív savtermelést ($\Delta\text{pH} = 2,06$) és szignifikáns glükózfogyást (kb. 50%) mutatott.

A funkcionális tulajdonságok vizsgálata során az összes fenolos tartalom (TPC) növekedését tapasztaltam minden táptalajban, amely a fermentáció során képződő bioaktív peptidekre utal. Az antimikrobiális aktivitás vizsgálatok kimutatták, hogy *Lactobacillus acidophilus* LA-5 fermentátumai hatékony gátlást fejtenek ki patogén mikroorganizmusokkal szemben, különösen *Enterobacter cloacae* (KHI = 12,00) és *Enterococcus faecalis* (KHI = 2,40) esetében.

A kutatás eredményei alátámasztják, hogy az MPC hatékonyan alkalmazható alternatív nitrogénforrásként probiotikus fermentációkban. Az MPC 2,2%-os koncentrációja optimális egyensúlyt biztosít a sejtnövekedés, metabolikus aktivitás és bioaktív vegyületek képződése között, mely lehetővé teszi funkcionális élelmiszerek és szinbiotikus termékek fejlesztését. A törzsfüggő metabolikus válaszok ismerete elengedhetetlen a célzott probiotikus alkalmazások tervezéséhez és az ipari fermentációs folyamatok optimalizálásához. Úgy vélem, hogy az MPC-alapú fermentáció ígéretes irányokat nyit az élelmiszeripari biotechnológiában és a funkcionális élelmiszerek fejlesztésében.

7. Irodalomjegyzék

- Cruz-Casas, D. E., Ascacio, C. N., Ascacio-Valdés, J. A., Rodríguez-Herrera, R., Chávez-González, M. L. and Flores-Gallegos, A. C. (2021) 'Enzymatic hydrolysis and microbial fermentation: The most favorable biotechnological methods for the release of bioactive peptides', *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 3, 100047. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2021.100047>
- Fabbri, L. P., Cavallero, A., Vidotto, F., & Gabriele, M. (2024). Bioactive peptides from fermented foods: Production approaches, sources, and potential health benefits. *Foods*, 13(21), 3369. <https://doi.org/10.3390/foods13213369>
- Gan, R. Y., Shah, N. P., Wang, M. F., Lui, W. Y. and Corke, H. (2016) 'Fermentation alters antioxidant capacity and polyphenol distribution in selected edible legumes', *International Journal of Food Science & Technology*, 53(4), pp. 875–884. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13062>
- Gao, P.-P., Liu, H.-Q., Ye, Z.-W., Zheng, Q.-W., Zou, Y., Wei, T., Guo, L.-Q., & Lin, J.-F. (2024). The beneficial potential of protein hydrolysates as prebiotic for probiotics and its biological activity: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(33), 13045–13057. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2260467>
- Guo, Q., Chen, P. and Chen, X. (2023) 'Bioactive peptides derived from fermented foods: Preparation and biological activities', *Journal of Functional Foods*, 101, 105422. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105422>
- Gustaw, W., Kordowska-Wiater, M. and Koziół, J. (2011) 'The influence of selected prebiotics on the growth of lactic acid bacteria for bio-yoghurt production', *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 10(4), pp. 455–466. PMID: 22230927.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., & Sanders, M. E. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), 506–514. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>
- IPA-Europe (2017) *What Probiotics Can Do for You: A Quick Guide to Probiotics*. Brussels: International Probiotics Association Europe.
- Jensen, M. P., Vogensen, F. K. and Ardö, Y. (2009) 'Variation in caseinolytic properties of six cheese related *Lactobacillus helveticus* strains', *International Dairy Journal*, 19(11), pp. 661-668 DOI:[10.1016/j.idairyj.2009.04.001](https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.04.001)
- Kashung, P., Karuthapandian, D. Milk-derived bioactive peptides. *Food Prod Process and Nutr* 7, 6 (2025). <https://doi.org/10.1186/s43014-024-00280-2>
- Kumar, M., Nagpal, R., Kumar, R., Hemalatha, R., Verma, V., Kumar, A., Chakraborty, C., Singh, B., Marotta, F., Jain, S., & Yadav, H. (2012). Cholesterol-lowering probiotics as potential biotherapeutics for metabolic diseases. *Experimental Diabetes Research*, 2012, 902917. <https://doi.org/10.1155/2012/902917>
- Malos, I. G., Pesarin, D., Ghizdareanu, A.-I., & Frunzareanu, B. (2025). A Promising Approach for the Food Industry: Enhancing Probiotic Viability Through Microencapsulated Synbiotics. *Microorganisms*, 13(2), 336. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13020336>
- Meena, G. S., Singh, A. K., Panjagari, N. R. and Arora, S. (2017) 'Milk protein concentrates: opportunities and challenges', *Journal of Food Science and Technology*, 54(10), pp. 3010–3024. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2796-0>

- Meng, L., Li, S., Liu, G., Fan, X., Qiao, Y., Zhang, A., Lin, Y., Zhao, X., Huang, K. and Feng, Z. (2021) 'The nutrient requirements of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and their application to fermented milk', *Journal of Dairy Science*, 104(1), pp. 138–150.
- Min, U., Jin, Y. J., Jang, Y. J., Lim, J., & Kim, B. Y. (2024). Personalized probiotic strategy considering bowel habits: impacts on gut microbiota composition and alleviation of gastrointestinal symptoms via Consti-Biome and Sensi-Biome. *Frontiers in nutrition*, 11, 1302093. <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1302093>
- Mohanty, D. P., Mohapatra, S., Misra, S. and Sahu, P. S. (2016) 'Milk derived bioactive peptides and their impact on human health - A review', *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(5), pp. 577–583. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.06.005>
- Nasri M. (2017). Protein Hydrolysates and Biopeptides: Production, Biological Activities, and Applications in Foods and Health Benefits. A Review. *Advances in food and nutrition research*, 81, 109–159. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2016.10.003>
- Nasri, R., Abdelhedi, O., Nasri, M. and Jridi, M. (2022) 'Fermented protein hydrolysates: biological activities and applications', *Current Opinion in Food Science*, 43, pp. 120–127. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.11.006>
- Panayotova, T., Pashova, K. and Dimitrov, Z. (2018) 'Production of ACE-inhibitory peptides in milk fermented with selected lactic acid bacteria', *Journal of Bioscience and Biotechnology*, 7(1), pp. 31–37.
- Patel, S. J. (2015) 'A comprehensive review on Probiotics', *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 3(2), pp. 286–290.
- Pawlos, M., Szajnar, K., & Znamirowska-Piotrowska, A. (2024). Probiotic Milk and Oat Beverages with Increased Protein Content: Survival of Probiotic Bacteria Under Simulated In Vitro Digestion Conditions. *Nutrients*, 16(21), 3673. <https://doi.org/10.3390/nu16213673>
- Pessione, E. (2016) 'Bioactive molecules released in food by lactic acid bacteria: Encrypted peptides and biogenic amines', *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00876>
- Pihlanto, A. (2006) 'Antioxidative peptides derived from milk proteins', *International Dairy Journal*, 16(11), pp. 1306–1314. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.06.005>
- Raveschot, C., Cudennec, B., Coutte, F., Flahaut, C., Fremont, M., Drider, D. and Dhulster, P. (2018) 'Production of bioactive peptides by *Lactobacillus* species: From gene to application', *Frontiers in Microbiology*, 9, 2354. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02354>
- Rosa, L. S., Santos, M. L., Abreu, J. P., Rocha, R. S., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., Mársico, E. T., Campelo, P. H., Pimentel, T. C., Cristina Silva, M., Souza, A. A., Nogueira, F. C. S., Cruz, A. G., & Teodoro, A. J. (2023). Probiotic fermented whey-milk beverages: Effect of different probiotic strains on the physicochemical characteristics, biological activity, and bioactive peptides. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 164, 112396. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112396>
- Savadogo, A., Ouattara, C. A. T., Bassole, I. H. N. and Traore, S. A. (2006) 'Bacteriocins and lactic acid bacteria - a minireview', *African Journal of Biotechnology*, 5(9), pp. 678–683.
- Shah, N. P., Lankaputhra, W. E. V., Britz, M. L. and Kyle, W. S. A. (2000) 'Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage', *International Dairy Journal*, 5(5), pp. 515–521. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(95\)00028-2](https://doi.org/10.1016/0958-6946(95)00028-2)
- Sibanda, T., Marole, T. A., Thomashoff, U. L., Thantsha, M. S. and Buys, E. M. (2024) 'Bifidobacterium species viability in dairy-based probiotic foods: challenges and innovative approaches for accurate

- viability determination and monitoring of probiotic functionality', *Frontiers in Microbiology*, 15, 1327010. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1327010>
- Sodini, I., Lucas, A., Oliveira, M. N., Remeuf, F. and Corrieu, G. (2002) 'Effect of milk base and starter culture on acidification, texture, and probiotic cell counts in fermented milk processing', *Journal of Dairy Science*, 85(10), pp. 2479–2488. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74330-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74330-0)
- Swanson, K. S., Gibson, G. R., Hutkins, R., Reimer, R. A., Reid, G., Resurreccion, A. V. and Verbeke, K. (2020) 'The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and measurement of synbiotics', *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 17, pp. 687–701. <https://doi.org/10.1038/s41575-020-0344-2>
- Tsai, C. C., Lin, P. P., Hsieh, Y. M., Zhang, Z. Y., Wu, H. C., & Huang, C. C. (2014). Cholesterol-lowering potentials of lactic acid bacteria based on bile-salt hydrolase activity and effect of potent strains on cholesterol metabolism in vitro and in vivo. *The Scientific World Journal*, 690752. <https://doi.org/10.1155/2014/690752>
- U.S. Dairy Export Council (2014) Reference Manual for U.S. Milk Protein Concentrates. Arlington: USDEC.
- Ummadi, M., Curic-Bawden, M. (2008). Use of Protein Hydrolysates in Industrial Starter Culture Fermentations. In: Pasupuleti, V., Demain, A. (eds) *Protein Hydrolysates in Biotechnology*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6674-0_6
- Underwood, M. A., German, J. B. and Lebrilla, C. B. (2015) '*Bifidobacterium longum* subspecies infantis: champion colonizer of the infant gut', *Pediatric Research*, 77, pp. 229–235. <https://doi.org/10.1038/pr.2014.156>
- Wang, G., , Huang, W., , Xia, Y., , Xiong, Z., , & Ai, L., (2019). Cholesterol-lowering potentials of *Lactobacillus* strain overexpression of bile salt hydrolase on high cholesterol diet-induced hypercholesterolemic mice. *Food & function*, 10(3), 1684–1695. <https://doi.org/10.1039/c8fo02181c>
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., & Geng, W. (2021). Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 9, 612285. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
- Yamaguchi, N., Kawaguchi, K., & Yamamoto, N. (2009). Study of the mechanism of antihypertensive peptides VPP and IPP in spontaneously hypertensive rats by DNA microarray analysis. *European journal of pharmacology*, 620(1-3), 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.08.005>
- Yang, M., Tang, Y., Li, H., Guo, S., Wu, J., Zhang, Y., Zhu, Y., & Ran, J. (2025). Exploring the effect of milk protein concentrate on the physicochemical and digestive properties of fermentation-induced mung bean protein gels. *International journal of biological macromolecules*, 318(Pt 2), 145090. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.145090>
- Yousefi, H., Moosavi-Nasab, M., Soleimani-Zad, S., Golmakani, M.-T., & Majdinasab, M. (2024). Antibacterial metabolites production by *Lactobacillus plantarum* PTCC 1896 in fermented whey and optimization of fermentation conditions for maximum production using RSM. *International Dairy Journal*, 152, 105865. [10.1016/j.idairyj.2024.105865](https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2024.105865)
- Zhao, Y.-S., Eweys, A. S., Zhang, J.-Y., Zhu, Y., Bai, J., Darwesh, O. M., Zhang, H.-B. and Xiao, X. (2021) 'Fermentation Affects the Antioxidant Activity of Plant-Based Food Material through the Release and Production of Bioactive Components', *Antioxidants*, 10(12), 2004. <https://doi.org/10.3390/antiox10122004>

NYILATKOZAT

Alulírott Szabó Csaba, a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Budai Campus, Biomérnöki Alapképzési szak nappali tagozat végzős hallgatója nyilatkozom, hogy a dolgozat saját munkám, melynek elkészítése során a felhasznált irodalmat korrekt módon, a jogi és etikai szabályok betartásával kezeltem. Hozzájárulok ahhoz, hogy Szakdolgozatom egyoldalas összefoglalója felkerüljön az Egyetem honlapjára és hogy a digitális verzióban (pdf formátumban) leadott dolgozatom elérhető legyen a témát vezető Tanszéken/Intézetben, illetve az Egyetem központi nyilvántartásában, a jogi és etikai szabályok teljes körű betartása mellett.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem

Kelt: 2025 év 11 hó 01 nap


Hallgató

NYILATKOZAT

Szabó Csaba (Neptun azonosítója: IR8QGL) 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 védeésre javaslom / nem javaslom.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem

Kelt: Budapest, 2025. október 31.


belső konzulens

Hallgatók, doktoranduszok nyilatkozata mesterséges intelligencia (MI) alkalmazásáról

1. Általános adatok

Hallgató neve:	Szabó Csaba
Neptun-kódja:	IR8QGL
Képzési szint (a megfelelőt jelölje X-szel):	<input checked="" type="checkbox"/> BSc/BA <input type="checkbox"/> MSc/MA <input type="checkbox"/> Doktori (PhD) <input type="checkbox"/> Egyéb:
Tantárgy neve/kódja*:	ELTUD157N
A munka címe:	Fehérjehidrolizátumok hatása probiotikus mikróbákra

* doktori értekezés esetén nem kitöltendő

2. Nyilatkozat az MI használatáról

Alulírott, etikai felelősségem teljes tudatában az alábbi nyilatkozatot teszem:

(Kérjük, válasszon egyet az alábbi lehetőségek közül!)

- A) Nem alkalmaztam mesterséges intelligencia rendszert vagy szolgáltatást.
(Amennyiben ezt jelölte, a további táblázatok kitöltése nem szükséges.)
- B) Alkalmaztam mesterséges intelligencia rendszert vagy szolgáltatást.
(Kérjük, töltsse ki a vonatkozó táblázatokat!)

3. A mesterséges intelligencia használatának részletezése

I. TÁBLÁZAT: Asszisztensi vagy kisebb mértékű felhasználás (pl. fordítás, nyelvi korrektúra, ötletelés stb.)

(Ezen felhasználások esetében a konkrét promptok és válaszok csatolása nem szükséges.)

A felhasználás célja	Alkalmazott MI-eszköz neve és verziója	Érintett rész (ha nem a szöveg egészére vonatkozik)
Kutatás támogatás, szakszavak fordítása, nyelvhelyesség ellenőrzése, megfogalmazás finomítása	Google Gemini 2.5 Pro	

II. TÁBLÁZAT: Jelentős tartalmi hozzájárulás (pl. egy teljes ábra vagy egy hosszabb szövegrész generálása)

(Ezekben az esetekben a felhasznált kulcsfontosságú promptok és az MI által adott nyers válaszok dokumentálása és a munka mellékletében való csatolása szükséges.)

A felhasználás célja	Alkalmazott eszköz verziója, elérhetősége	MI-neve.	Az érintett fejezet / ábra / táblázat pontos sorszáma	A prompt-naplót tartalmazó melléklet bejegyzésének sorszáma

3/A. Oktató által előírt kiegészítő szabályok (ha vannak)

Amennyiben az adott tantárgy oktatója vagy témavezetője az MI-eszközök használatára vonatkozóan külön szabályokat vagy elvárásokat határozott meg, kérjük, az alábbi mezőben foglalja össze ezeket:

Pl. az MI használatának tilalma bizonyos feladattípusokra; csak konkrét eszköz használata engedélyezett; eltérő hivatkozási elvárások; dokumentációs forma stb.

Oktató vagy témavezető által előírt szabályok:

.....

.....

.....

.....

4. Minden hallgatóra vonatkozó nyilatkozat:

Kijelentem, hogy az MI által esetlegesen generált tartalmakat minden esetben kritikailag felülvizsgáltam, szerkesztettem és a munkába illesztettem. A leadott munka minden eleméért, annak eredetiségéért és tudományos helytállóságáért teljes körű felelősséget vállalok. Tudomásul veszem, hogy a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem a benyújtott munkát mesterséges intelligencia detektorral ellenőrizheti, és eljárást kezdeményezhet, amennyiben a nyilatkozatom valótlan vagy hiányos.

Kelt: *Telki* 2025. *11* hó *06.* nap

[Handwritten signature]
.....

Hallgató aláírása

[Handwritten signature]
.....

Konzulens/Témavezető aláírása