

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Táplálkozástudományi Tanszék



Lencse (*Lens culinaris* Medik)
és sárgaborsó (*Pisum sativum* L.)
tejsavas fermentációjának vizsgálata

Magócsi Emese

Budapest

2022

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet

Szak neve: BSc Élelmiszermérnöki

Táplálkozás-Élelmiszertechnológia szakirány

Modul szerinti tanszék: Táplálkozástudományi Tanszék

Szakedolgozat készítés helye: Táplálkozástudományi Tanszék, Élelmiszertudományi Kutatócsoport

Hallgató: Magócsi Emese

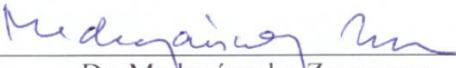
A szakedolgozat címe: Lencse (*Lens culinaris* Medik) és sárgaborsó (*Pisum sativum* L.) tejsavas fermentációjának vizsgálata

Konzulens: Dr. Hegyi Ferenc

Beadás dátuma: 2022. november 02.


Dr. Mednyánszky Zsuzsanna
szakedolgozat készítés helyének vezetője


Dr. Hegyi Ferenc
konzulens


Dr. Mednyánszky Zsuzsanna
Táplálkozástudományi Tanszék

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés.....	1
2. Célkitűzés	2
3. Irodalmi áttekintés	3
3.1. Hüvelyesek beltartalmi értékei.....	3
3.1.1. A lencse és sárgaborsó beltartalmi értékei	3
3.1.2. Fehérjék hasznosulása	5
3.1.3. Antinutritív komponensek	6
3.2. Tejsavbaktériumok általános jellemzése	8
3.2.1. <i>Lactobacillus</i> -ok	10
3.2.2. Probiotikumok	10
3.2.3. Prebiotikumok	12
3.3. Tejsavas fermentáció.....	12
4. Anyagok és módszerek	14
4.1. Vizsgálati minták	14
4.2. Alkalmazott <i>Lactobacillus</i> törzsek	14
4.3. Alkalmazott táptalajok és összetételük.....	15
4.3.1. Peptonvíz	15
4.3.2. MRS (de Man, Ragosa, Sharpe) tápleves	15
4.3.3. MRS (de Man, Ragosa, Sharpe) tápagar	16
4.3.4. PCA (Plate Count Agar) tápagar	16
4.4. A gélelektroforézis során használt oldatok és vegyszerek	17
4.4.1. Nátrium-dodecil-szulfát gélelektroforézis (SDS-PAGE)	17
4.4.2. Natív gélelektroforézis (natív PAGE)	18
4.4.3. Tripszin-inhibitor aktivitásának vizsgálata natív gélen enzimes festéssel	19
4.5. Tejsavas fermentáció	19

4.5.1. pH-mérés	21
4.5.2. Oldott szárazanyagtartalom meghatározása	21
4.5.3. Titrálható savtartalom meghatározása	21
4.5.4. Telepszám meghatározása	22
4.6. Liofilizálás	23
4.7. Gélelektroforézis.....	23
4.7.1. Nátrium-dodecil-szulfát gélelektroforézis (SDS-PAGE)	23
4.7.2. Natív gélelektroforézis (natív PAGE)	24
4.7.3. Tripszin-inhibitor aktivitásának vizsgálata natív gélen enzimes festéssel	25
5. Eredmények és értékelésük	26
5.1. Tejsavas fermentáció	26
5.2. Tárolási kísérlet	32
5.3. A fermentáció és a tárolás hatásának vizsgálata a fehérjékre vonatkozóan.....	38
6. Összefoglalás	45

1. Bevezetés

Az utóbbi években egyre nagyobb népszerűségnek örvendenek a különböző alternatív táplálkozási irányzatok. Ezen belül is a vegetáriánus étrend különböző változatai terjedtek el leginkább. Megnövekedett az egészségesebb életmód iránti igény, ezzel párhuzamosan több figyelem irányul a környezetvédelemre és a fenntarthatóságra is.

A növényi fehérjeforrásoknak jelenlegi ismereteink szerint kisebb a biológiai értéke, mint az állati eredetűeknek. Esszenciális aminosavakban hiányos, inkomplett fehérjéket tartalmaznak, de más esszenciális aminosavban hiányos inkomplett fehérjékkel teljes értékűvé tehetők. A vegetáriánus táplálkozás a fehérjefogyasztást tekintve optimális energiabevitel esetén általában megfelel a táplálkozási ajánlásoknak.

A hüvelyesek nagyon jó beltartalmi értékekkel rendelkeznek, rendszeresen, nagyobb mértékben fogyasztva biztosítják egy egészséges felnőtt számára a megfelelő fehérjebevitelt, ezen kívül összefüggésbe hozhatóak néhány krónikus betegség kialakulási kockázatának csökkentésével is. A sok pozitív tulajdonság mellett azonban meg kell említeni, hogy tartalmaznak antinutritív komponenseket, amelyek negatívan befolyásolják az emészthetőséget.

Szakdolgozatomban két hüvelyes - lencse és sárgaborsó - kémhatásának, oldható szárazanyagtartalmának, titrálható savtartalmának és sejtkoncentrációjának változását követtem nyomon különböző *Lactobacillus* törzsekkel végzett tejsavas erjedés során. Azért esett a választásom erre az eljárásra, mert a tejsavas fermentációval elérhető a nem kívánatos komponensek mennyiségének csökkentése a magas tápérték megtartása mellett. A probiotikus baktériumok alkalmazásával az elkészült termék is probiotikus lesz.

A fermentációs folyamat végén a mintákat liofilizáltam, majd gélelektroforézis módszerrel megvizsgáltam a tejsavas erjedés hatását a fehérjék hasznosulására, valamint az antinutritív komponensek változására.

2. Célkitűzés

A vegetáriánus irányzatok népszerűségének növekedése és széles körben való elterjedése miatt fontos a növényi fehérjék emészthetőségének optimalizálása, hogy a különleges étrendet követők számára is biztosítva legyen az egészséges életmód fenntartásához megfelelő mennyiségű makrotápanyag bevitele.

Szakdolgozatom célja lencse és sárgaborsó tejsavas fermentációja során a folyamat paramétereinek (pH, oldott szárazanyagtartalom, titrálható savtartalom, élősejtszám) monitorozása a két hüvelyes antinutritív komponenseinek csökkentése a jobb biológiai érték elérésének érdekében.

Továbbá célul tűztem ki a különböző *Lactobacillus* törzsekkel - köztük bizonyítottan probiotikus törzsek alkalmazásával - fermentált hüvelyesek monitorozását a tárolás során.

3. Irodalmi áttekintés

3.1. Hüvelyesek beltartalmi értékei

A hüvelyesek - beleértve a lencsét, és a sárgaborsót, ami a zöldborsó szárított, hántolt változata - jó szénhidrát-, fehérje-, vitamin- és ásványi anyag források (1. táblázat), így fontos szerepük van az egészséges életmód kialakításában és megőrzésében. Alkalmasak az állati fehérjék helyettesítésére, magas élelmirost-tartalmuknak köszönhetően kedvező élettani hatással rendelkeznek néhány anyagcserét befolyásoló betegség megelőzésében és szabályozásában (Han and Baik, 2008; Kumar et al., 2022; Michaels, 2004; Petruláková and Valík, 2015).

1. táblázat: Lencse, csicseriborsó, borsó és szójabab fehérje-, lipid-, keményítő- és hamutartalma (Han and Baik, 2008)

Hüvelyesek	Tartalom (% szárazanyag)			
	Fehérje	Lipid	Keményítő	Hamu
Lencse	26,5-28,1	0,8-0,9	49,6-50,8	2,9-3,0
Csicseriborsó	20,5	6,1	48,6	3,4
Sárgaborsó	24,5	1,1	53,3	2,9
Zöldborsó	27,3	1,0	49,5	2,9
Szójabab	40,9	25,4	1,5	5,3

A lencse, a borsó és a csicseriborsó fő alkotórészei a keményítő és a fehérje. A szójabab a magas fehérje- és lipidtartalom mellett elhanyagolható mennyiségű keményítőt tartalmaz (Han and Baik, 2008).

3.1.1. A lencse és sárgaborsó beltartalmi értékei

Napjaink egyik globális problémája a túlnépesedés, és a megnövekedett népesség megfelelő élelmiszerellátása a természet erőforrásainak túlzott felhasználása nélkül. Az élelmiszerelőállítás negatív hatásainak elsődleges forrása az állattenyésztés, az ehhez szükséges energiafelhasználás és az állatok által kibocsátott üvegházhatású gázok miatt (Clark et al., 2017).

A Föld népessége jelenleg közel 8 milliárd fő, 2050-re pedig ez a szám meghaladhatja a 9 milliárdot is, ami a hústermelés 50-73%-os növelését teszi szükségessé a folyamatosan növekvő igények kielégítése érdekében (Bonny et al., 2017).

Magas tápértéküknek és a különböző táplálkozási trendeknek köszönhetően egyre elterjedtebbé vált az állati eredetű fehérjék teljes vagy részleges helyettesítése növényi fehérjeforrásokkal (Lin et al., 2017). Erre a célra a lencse és a sárgaborsó is megfelelő választás lehet jó funkcionális tulajdonságaik - magas fehérje- és rosttartalom, alacsony zsírtartalom (2. táblázat) - és magas fehérje-emészthetőségük, valamint alacsony költségük miatt (Alrosan et al., 2022; Jarpa-Parra et al., 2014; Kumar et al., 2022).

2. táblázat: Lencse és sárgaborsó hozzávetőleges összetétele 100 gramm hüvelyesre vonatkoztatva (Kumar et al., 2022)

	Lencse	Sárgaborsó
Energia [kcal]	343	315
Nedvesség (%)	12	16
Fehérje (%)	25	20
Zsír (%)	1	1
Szénhidrát (%)	59	56
Ásványi anyag (%)	2	2
Rost (%)	1	4
Kalcium [mg]	69	75
Foszfor [mg]	293	298
Vas [mg]	7	7

A különböző hüvelyes növények - így a lencse és a sárgaborsó - rendszeres fogyasztása epidemiológiai vizsgálatok eredményei alapján összefüggésbe hozható a koleszterinszint, a vastagbélrák, valamint a 2-es típusú cukorbetegség kialakulási kockázatának csökkentésével (Ganesan and Xu, 2017; Han and Baik, 2008). Rengeteg fenolkarotinoid-, tokoferol-vegyületet, fitinsavat és fitoszterolokat tartalmaznak, amelyek fogyasztásának egészségügyi előnyeit több kutatás is megerősítette. Ezen fitokemikáliák olyan nem esszenciális bioaktív vegyületek és másodlagos anyagcseretermékek, amelyek a növényekben természetes módon fordulnak elő, potenciálisan antioxidáns aktivitással rendelkeznek, gyulladáscsökkentő hatásúak. A flavonoidok és karotinoidok ezen kívül az élelmiszerek színének és érzékszervi tulajdonságainak kialakításáért is felelősek (Han and Baik, 2008; Zhang et al., 2018).

A lencse egészségre gyakorolt pozitív hatásait számos tényező befolyásolhatja, mivel a fenolok, karotinoidok, tokoferolok és egyéb tápanyagok összetétele eltérhet a különböző fajták, illetve különböző feldolgozási módok esetében. Általában hőkezelve, főzve egészben fogyasztják, de folyamatosan növekszik a kereslet az alternatív növényi fehérjék és a hüvelyesekből készült lisztet tartalmazó gluténmentes termékek irányába. A feldolgozás során jelentős mennyiségű maghéj keletkezik, ami a lencsében található élelmi rostok és fenolok fő forrása (Zhang et al., 2018).

3.1.2. Fehérjék hasznosulása

3.1.2.1. Aminosav-szintézis

Az aminosavak a szervezet fehérjeinek építőkövei, hormonok, porfirinek, purinok, pirimidinek, koenzimek, alkaloidok prekursorai. Energiaforrásként is szolgálnak, mivel a glükoneogenezis útján glükózzá alakulhatnak vagy beépülhetnek a citrátkörbe. Az élőlényeknek a fehérjéket felépítő aminosavaknak csak egy részét kell külső forrásból megszerezniük, ezeket esszenciális aminosavaknak nevezzük. A többi - nem esszenciális - aminosav a szervezetükben szintetizálódik (Csapó et al., 2016). A 3. táblázatban az emberi táplálkozás szempontjából való csoportosítás látható.

3. táblázat: Aminosavak csoportosítása az ember táplálkozási igényeinek megfelelően (Csapó et al., 2006)

Esszenciális	Szemiesszenciális	Nem esszenciális
Lizin Triptofán Fenilalanin Metionin Treonin Leucin Izoleucin Valin	Arginin Tirozin Cisztein Glicin Szerin Hisztidin	Glutaminsav Aszparaginsav Alanin Prolin

A szemiesszenciális aminosavak képesek csökkenteni a szervezet esszenciális aminosavak iránti igényét.

Biokémiai szempontból azok az esszenciális aminosavak, amelyek szintéziséhez a szervezetben nincs meg a szükséges enzimmészlet. Táplálkozásélettani szempontból azok az aminosavak sorolhatóak ide, amelyeket táplálék útján kell bevinni, a megfelelő bevitelnek

hiánya a még fejlődésben lévő szervezetek növekedésében zavart okoz. A lencse számos esszenciális aminosavat tartalmaz, amely 100 grammra vonatkoztatva meghaladja a FAO/WHO által ajánlott napi bevitel értékét (4. táblázat) (Alrosan et al., 2022; Csapó et al., 2006).

4. táblázat: A lencsefehérjék átlagos esszenciális aminosavtartalmának [g/100 g] összehasonlítása a FAO/WHO egészséges felnőttek számára ajánlott bevitelével (Alrosan et al., 2022)

Aminosavak	Lencsefehérjék [g/100 g]	FAO/WHO ajánlása [g/100 g]
Hisztidin	2,82	1,9
Treonin	3,50	1,3
Cisztein	1,31	1,9
Metionin	0,93	
Valin	5,14	0,9
Tirozin	4,04	1,7
Fenilalanin	5,42	
Izoleucin	4,76	1,6
Lizin	7,11	1,6
Leucin	8,39	1,9

3.1.3. Antinutritív komponensek

A sok egészségre előnyös összetevő mellett, a hüvelyesek nagy arányban tartalmaznak antinutritív vegyületeket is. Ezek a másodlagos anyagcsere-folyamatok során keletkeznek és elsősorban a maghéjban vannak jelen. Rendkívül hőérzékenyek, így jelenlétük megfelelő hőkezeléssel és fermentálással nagy mértékben csökkenthető az élelmiszerben (Alonso et al., 1998; Kumar et al., 2022).

Az enzimgátló hatású bioaktív vegyületek olyan fehérjék, amelyek specifikus enzim-inhibitor-komplex képződéssel rendelkeznek. Ez az aktív hely blokkolásához, az enzim konformációjának megváltozásához, valamint a katalitikus funkció csökkentéséhez vezet. A hüvelyesekben megtalálható enzim-inhibitorok lehetnek proteáz-inhibitorok, α -amiláz-inhibitorok, illetve kolinészteráz-inhibitorok. A proteáz-inhibitorok egyik lehetséges fajtája a tripszin-inhibitor a hüvelyesekben leggyakrabban előforduló antinutritív komponens. Jelenlétük hatására csökken a fehérjék emészthetősége, a szervezet nem tudja hasznosítani az egészséges táplálkozáshoz szükséges aminosavak mennyiségét. A kimotripszin-inhibitorok szintén a fehérjék emészthetőségét korlátozzák. A fő különbség az, hogy a tripszin-inhibitor a lizin és az arginin, a kimotripszin-inhibitor pedig a tirozin, triptofán és

fenilalanin elérhetőségét gátolja. (Kumar et al., 2022; Wang et al., 2009). Az α -amiláz-inhibitorok fehérjeszerű vegyületek, amelyek befolyásolják a hasnyálmirigyben és nyálmirigyben megtalálható α -amiláz aktivitását, ezáltal akadályozzák a keményítő emészthetőségét (Savelkoul et al., 1992). Az utóbbi években kiderült, hogy a proteáz-inhibitorok gyulladáscsökkentő és rákellenes hatással bírnak. Az α -amiláz-inhibitorok a keményítő emésztésének lassításával megváltoztatják a szervezet inzulinra adott válaszát, ami sok új lehetőséget eredményez a cukorbetegség részére történő termékfejlesztésben (Roy et al., 2010).

A lektinek a hüvelyesekben nagy mennyiségben előforduló, nem immuneredetű, fehérjeszerű mérgező vegyületek. Képesek a vörösvértestek agglutinálására, emiatt fitohemagglutinineknek is nevezik őket. Szénhidrátkötő fehérjeként határozzák meg őket, mivel specifikusan megkötik az egyszerű és összetett szénhidrátokat. Toxicitásuk függ a hüvelyes és az azt elfogyasztó állat fajtától. Emberek esetében a hüvelyesek lektinjei a bélhámsejt felületén lévő specifikus receptorsejtekhöz kötődnek, ezzel gátolják a tápanyag felszívódását. Ezt követően változást idézhet elő az emésztőrendszer emésztési, felszívódási, védő, kiválasztási funkcióiban, valamint hatással lehet a sejtek proliferációjára. Hátrányosan befolyásolják az emésztőenzimek aktivitását, ezáltal csökkentik a fehérjék *in vitro* emészthetőségét (Bouckaert et al., 1999; Kumar et al., 2022; Thompson et al., 1986). Az egészségre gyakorolt negatív hatások mellett kimutatták, hogy a lektineknek antikarcinogén és antiimmunmoduláns tulajdonságokkal rendelkeznek. A bab lektinjei segítenek az elhízás kezelésében, mivel ellenállnak a gyomor-bélrendszer traktusban történő emésztésnek (Hartmann and Meisel, 2007).

A keserű íz és sötét szín kialakulását a fenolsavak, tanninok és flavonoidok okozzák. A sötétebb színű hüvelyesek általában magasabb fenoltartalommal rendelkeznek, így nagyobb mértékben csökkentik az ásványi anyagok - elsősorban a cink - biológiai hozzáférhetőségét (Kumar et al., 2022). A szaponinok a hüvelyesek másodlagos növényi anyagcseretermékei. Az emberi szervezetbe kerülve fokozhatják a bélnyálkahártya sejtjeinek permeabilitását, gátolhatják az aktív nyálkahártya transzportját és elősegíthetik olyan anyagok felszívódását, amelyek normális esetben nem szívódnának fel a bélrendszerben (Couto et al., 2015). Ezzel szemben kiemelkedő szerepet játszanak számos krónikus betegség csökkentésében antikarcinogén, gyulladáscsökkentő, hipoglikémiás, immunmoduláló és idegvédő tulajdonságaik miatt (Kumar et al., 2022; Singh et al., 2017).

A hüvelyesek α -galaktozil-származék oligoszacharidokat (raffinóz, sztachióz, verbaszkóz és adjugóz), másnéven élelmi rostokat tartalmaznak, amelyek α -galaktozidos kötésekkel kapcsolódnak egymáshoz (Muzquiz et al., 2012). Az emberi szervezetben azonban nincs meg ezek lebontásához szükséges α -galaktozidáz enzim, ezért ezek a szénhidrátok emésztetlenül jutnak el a vastagbélbe, ahol anaerob erjedés következtében hidrogén, szén-dioxid és metán keletkezik. Ezek a gázok hasi kellemetlenséget és puffadást okoznak, emiatt az emésztetlen rostokat flatulencia faktoroknak is nevezik (Kumar et al., 2022). Az élelmi rostok megfelelő mértékű bevitele fontos az egészséges életmód fenntartásában. Rendszeres fogyasztásuk elősegíti a bélműködés és az immunrendszer normál működését, csökkenti a szív-koszorúér betegségek kialakulásának esélyét, serkenti a *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsek szaporodását a bélben, az enterobaktériumokét pedig gátolja (Anderson and Major, 2002; Kumar et al., 2022; Singh et al., 2017).

3.2. Tejsavbaktériumok általános jellemzése

Tejsavbaktériumoknak nevezzük az emberi gyomor-bél traktusban is élő Gram-pozitív, *Firmicutes* törzsbe tartozó, nem spóraképző baktériumokat. Mivel ez az elnevezés nem rendszertani kategóriát jelöl, az ide sorolt, molekuláris tulajdonságok alapján kialakított nemzetségek élettani hatásai és alaktani tulajdonságai nem minden esetben hasonlóak (Deák et al., 2006; Holzapfel et al., 2001). A tejsavbaktériumok rendszerezése az 5. táblázatban látható.

5. táblázat: A tejsavbaktériumok rendszerezésének áttekintése a családok és nemzetségek szintjén (Deák et al., 2006)

1. Lactobacillaceae <i>Lactobacillus</i> <i>Pediococcus</i>	3. Carnobacteriaceae <i>Carnobacterium</i> <i>Agitococcus</i> <i>Alloicoccus</i> <i>Desemzia</i> <i>Dolosigranulum</i> <i>Trichococcus</i>	5. Leuconostocaceae <i>Leuconostoc</i> <i>Oenococcus</i> <i>Weisella</i>
2. Aerococcaceae <i>Aerococcus</i> <i>Abiotrophia</i> <i>Dolosicoccus</i> <i>Granulicatella</i> <i>Helicococcus</i> <i>Alloicoccus</i> <i>Eremococcus</i> <i>Faclamina</i> <i>Globicatella</i> <i>Ignavigranum</i>	4. Enterococcaceae <i>Enterococcus</i> <i>Mellisococcus</i> <i>Tetragenococcus</i> <i>Vagococcus</i>	6. Streptococcaceae <i>Streptococcus</i> <i>Lactococcus</i>

A tejsavbaktériumok hagyományos osztályozása olyan fenotípusos tulajdonságok alapján történt, mint a morfológia, a glükózfermentáció módja, a tejsavkonfiguráció, valamint a különböző hőmérsékleten és pH-értéken történő szaporodási képesség (Holzapfel et al., 2001). Ezeket a tulajdonságokat a 6. táblázat ismerteti a különböző tejsavbaktérium nemzetségek esetében.

6. táblázat: Tejsavbaktérium nemzetségekre vonatkozó alaki és élettani tulajdonságok (Deák et al., 2006)

Nemzetség	Alak	CO ₂ -képzés	Tejsav típus	Szaporodás				
				10 °C	45 °C	6,5% NaCl	pH 4,4	pH 9,6
<i>Lactobacillus</i>	pálca	±	D, L, DL	±	±	±	±	–
<i>Carnobacterium</i>	pálca	–	L	+	–	±	–	–
<i>Enterococcus</i>	kokkusz	–	L	+	+	+	+	+
<i>Lactococcus</i> <i>Vagococcus</i>	kokkusz	–	L	+	–	–	±	–
<i>Leuconostoc</i> <i>Oenococcus</i>	kokkusz	+	D	+	–	±	±	–
<i>Pediococcus</i>	tetrád	–	L, DL	±	±	±	+	–
<i>Streptococcus</i>	lánc	–	L	–	±	–	–	–
<i>Tetragenococcus</i>	tetrád	–	L	+	–	+	–	+
<i>Weisella</i>	kokkusz	±	D, DL	+	–	±	±	–

Energiatermelő anyagcseréjük egyetlen lehetséges módja a tejsavas fermentáció, ennek oka, hogy nem rendelkeznek a teljes Szent-Györgyi-Krebs-ciklussal. Alapvetően anaerobok, de aerob körülmények között is életképesek. Szaporodásukhoz savas közegre van szükség, optimálisan pH = 5,5 körüli értékre, de akár 3,0-3,5-ös pH-érték mellett is képesek túlélni (Deák et al., 2006).

A tejsavbaktériumok jótékony hatásait az élelmiszerekben már a 19. században is vizsgálták. 1857-ben Pasteur jelentős felfedezést tett a tejsavas erjedésről, majd 1873-ban először izoláltak tiszta *Bacterium lactis* tenyészetet. (Stiles and Holzapfel, 1997). Az emberi szervezet számára előnyös tulajdonságokkal bíró metabolitokat termelnek, de nem minden tejsavbaktérium törzs probiotikus (Csapó et al., 2016).

3.2.1. *Lactobacillus*-ok

A legtöbb tejsavbaktérium fajt a *Lactobacillus* nemzetségbe soroljuk, az ide tartozó mikroorganizmusok pálcá alakúak, erjesztésük módját tekintve lehetnek obligát homofermentatívok, obligát heterofermentatívok, vagy fakultatív heterofermentatívok. Mindhárom csoport tagjait alkalmazzák fermentált élelmiszerekben, de a fakultatív heterofermentatív baktériumok jelenléte gyakran az élelmiszerek romlásához vezet.

Az általuk termelt tejsav optikai forgatóképesség szempontjából mindhárom konfiguráció (D, L és DL) előfordul (6. táblázat). Megtalálhatóak az emberi, állati és növényi szervezetekben is, bizonyos törzseket probiotikumként tartunk számon. A gyümölcsökön és zöldségeken élő baktériumoknak szerepe van a savanyúságok erjesztésében (Deák et al., 2006; Stiles and Holzapfel, 1997).

A *Lactobacillus plantarum* számos közegben megtalálható, képes kolonizálni az emberek és más emlősök bélrendszerét. Szerepe van az immunrendszer szabályozásában, a patogén baktériumok antagonizmusában, a szérum koleszterinszintjének csökkentésében, valamint a szív- és érrendszeri betegségek kialakulásának megelőzésében (Chen et al., 2021; de Vries et al., 2006).

3.2.2. Probiotikumok

A probiotikumok olyan élő mikroorganizmusok, amelyek megfelelő bevitel esetén pozitív hatást gyakorolnak a gazdaszervezet egészséges működésére (Food and Agriculture

Organization of the United Nations/World Health Organization, 2002). Legfontosabb képviselőik a *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* nemzetség tagjai, de más baktérium- és élesztőgombatörzsek is alkalmazhatók probiotikumként (Deák et al., 2006).

Az utóbbi években több kutatás témájául szolgáltak a probiotikumok lehetséges jótékony hatásai az emberi szervezetre. A szakirodalmi adatok alapján megállapítható, hogy a probiotikus mikroorganizmusok egyes törzseinek rendszeres bevitele biztonságos, ezen kívül elősegítheti többek között a gyomor-bélrendszeri és húgyúti fertőzések, allergiák, valamint egyes bélbetegségek kialakulásának kockázatát. Ezek a tulajdonságok azonban törzs-specifikusak, ezért nem vetíthetők ki más törzsekre azonos fajon belül (Senok et al., 2005). A probiotikus tulajdonságokkal rendelkező mikroorganizmusokat a 7. táblázat mutatja be.

7. táblázat: Probiotikus mikroorganizmusok (Holzapfel et al., 2001)

<i>Lactobacillus</i> törzsek	<i>Bifidobacterium</i> törzsek	Egyéb tejsavbaktériumok	Nem tejsavbaktériumok
<i>Lb. acidophilus</i> <i>Lb. amylovorus</i> <i>Lb. casei</i> <i>Lb. crispatus</i> <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> <i>Lb. gallinarum</i> <i>Lb. gasseri</i> <i>Lb. johnsonii</i> <i>Lb. paracasei</i> <i>Lb. plantarum</i> <i>Lb. reuteri</i> <i>Lb. rhamnosus</i>	<i>Bb. adolescentis</i> <i>Bb. animalis</i> <i>Bb. bifidum</i> <i>Bb. breve</i> <i>Bb. infantis</i> <i>Bb. lactis</i> <i>Bb. longum</i>	<i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i> <i>Ec. faecium</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconostoc</i> <i>mesenteroides</i> <i>Sporolactobacillus</i> <i>inulinus</i> <i>Streptococcus</i> <i>thermophilus</i>	<i>B. cereus</i> var. <i>toyoi</i> <i>E. coli</i> strain nissle <i>Propionibacterium</i> <i>freudenreichii</i> <i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i> <i>Saccharomyces</i> <i>boulardii</i>

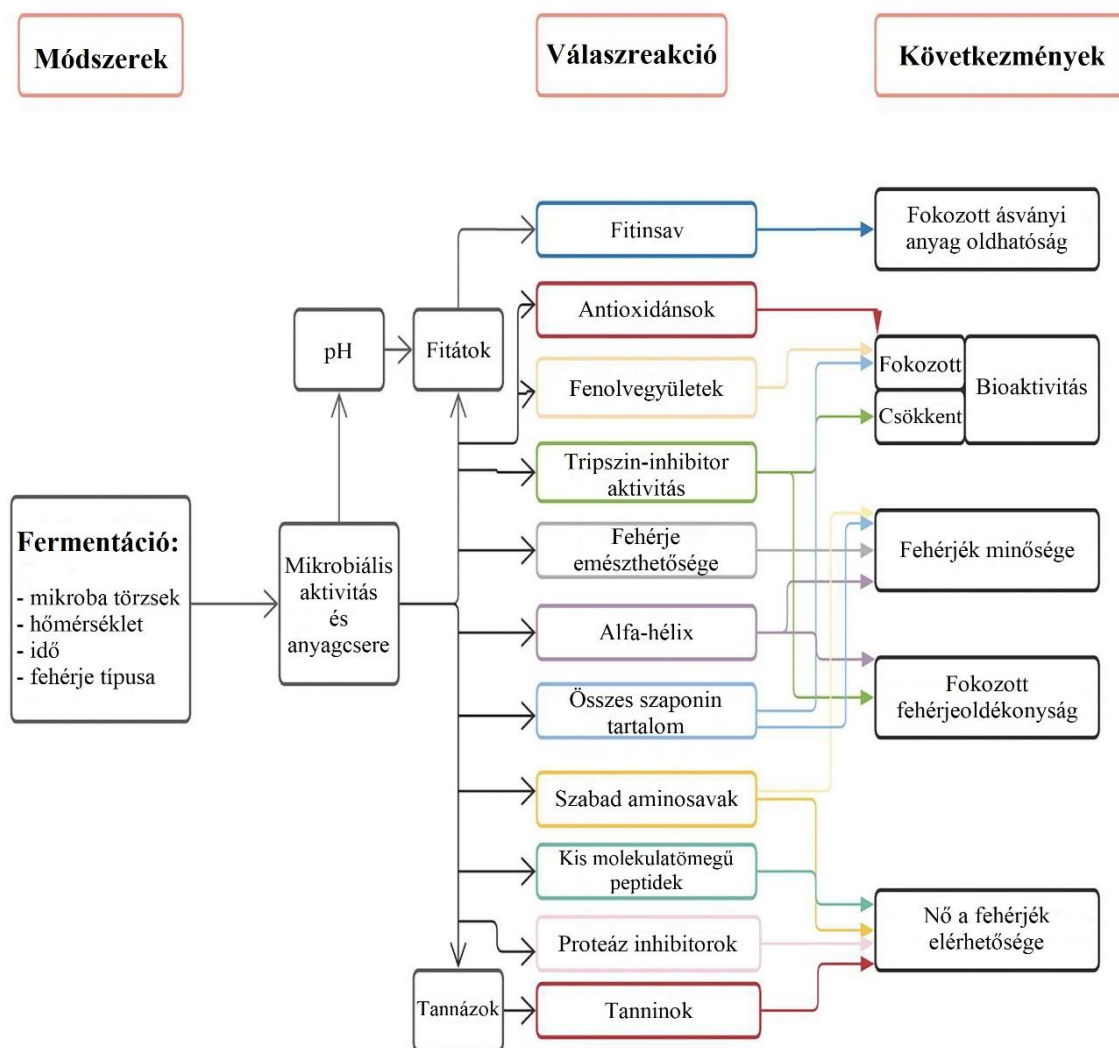
A *Lactobacillus gallinarum*-ot, az *Enterococcus faecalis*-t, a *Sporolactobacillus inulinus*-t elsősorban állati takarmányokban, a *Saccharomyces cerevisiae*-t és a *Saccharomyces boulardii*-t gyógyászati készítményekben, a *Bacillus cereus*-t és a *Propionibacterium freudenreichii*-t mind a takarmányozásban, mind a gyógyszeriparban alkalmazzák. A többi probiotikus mikroorganizmust főként az élelmiszeripar használja (Holzapfel et al., 2001).

3.2.3. Prebiotikumok

A prebiotikumok - korábbi nevükön bifidogén-faktorok - olyan szelektíven fermentálható összetevők, amelyek lehetővé teszik a gasztrointesztinális mikroflóra összetételének és aktivitásának a gazdaszervezet egészségére nézve előnyös, specifikus változását (Roberfroid, 2007). Az emberi bélrendszerbe bekerülve nem bomlanak le, így kizárólagos táplálékként szolgálnak a vastagbélben megtalálható probiotikus tejsavbaktériumoknak. Számos pozitív hatást válthatnak ki, többek között telítettség-érzetet okoznak, szabályozzák a bélmozgást, segítenek az egészséges széklet kialakításában és a kórokozó-kolóniák elszaporodásának csökkentésében. Emellett serkentik az immunrendszer működését, az ásványi anyagok megfelelő mértékű felszívódását és csökkenthetik a vastagbélrák kialakulásának kockázatát (Csapó et al., 2016; Deák et al., 2006; Johnson et al., 2013).

3.3. Tejsavas fermentáció

A fermentáció a hüvelyesek tartósításának egyik legősibb módszere, ami elsősorban az ázsiai és afrikai országokban terjedt el. A tejsavas fermentáció spontán vagy irányítottan is végbemehet. Az erjedés spontán módon, a természetes mikroflóra által, gyakran nem megfelelő higiéniai körülmények között játszódik le. Az irányított fermentáció olyan - mikrobiológiai szempontból biztonságos - élelmiszerek fejlesztésére kínál lehetőséget, amelyek magasabb tápértékkel, kedvező érzékszervi tulajdonságokkal, hosszabb minőségmegőrzési idővel rendelkeznek, minimális feldolgozáson estek át és adalékanyagoktól mentesek. Ahogy az az 1. ábrán is látható, tejsavas erjedés következtében módosul a növényi eredetű fehérjék tápanyagkomponenseinek biokémiai és biológiai hozzáférhetősége. Lebomlanak a pillangósvirágú növényekben jelen lévő antinutritív anyagok és toxinok, valamint javul az emészthetőségük is (Alrosan et al., 2022; Deák et al., 2006; Frias et al., 2005; Petruláková and Valík, 2015).



1. ábra: A fermentáció élelmiszerkomponensekre és funkcionális tulajdonságokra gyakorolt hatásának vázlatos ábrázolása (Alrosan et al., 2022)

4. Anyagok és módszerek

4.1. Vizsgálati minták

A szakdolgozatom készítése során sárgaborsó és lencse tejsavas fermentációját vizsgáltam, a kísérlethez szükséges mennyiségű száraz sárgaborsót (PACO, Pa-Comp Kft.) és lencsét (PACO, Pa-Comp Kft.) kiskereskedelmi forgalomból szereztem be.

4.2. Alkalmazott *Lactobacillus* törzsek

A fermentációt négy különböző tejsavbaktérium törzs - *Lactobacillus plantarum* 2142, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus casei* Shirota, *Lactobacillus plantarum* LB-Harvest - alkalmazásával végeztem el. A felhasznált törzsek neveit és a hozzájuk tartozó kódszámot a 8. táblázat tartalmazza.

Azért esett a választásom a felsorolt baktériumokra, mert a *Lactobacillus rhamnosus* és *Lactobacillus casei* igazoltan probiotikus tulajdonságokkal rendelkeznek, a *Lactobacillus plantarum* törzseket pedig előszeretettel alkalmazzák zöldségek tejsavas fermentációja során, ezen törzs képviselői természetes módon is megtalálhatóak a növények felületén. A *Lactobacillus plantarum* LB-Harvest egy kereskedelmi forgalomban kapható törzs.

8. táblázat: A vizsgált tejsavbaktérium törzsek

A vizsgálathoz felhasznált tejsavbaktérium neve	A minta kódszáma	Származási hely
<i>Lactobacillus plantarum</i> 2142	2142	AFP
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	GG	*
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	Shirota	FVM
<i>Lactobacillus plantarum</i> LB-Harvest	LB-H	CHR

- AFP - Perugia-i Egyetem, Mezőgazdasági Tanszék, Tejipari Intézet, Olaszország
- * - Multi-tabs® IMMUNO tablettából izolált
- FVM - Utrecht-i Egyetem, Állatorvosi Kar, Hollandia
- CHR - Christian Hansen Holding A/S, Dánia

4.3. Alkalmazott táptalajok és összetételük

4.3.1. Peptonvíz

- 8,5 g nátrium-klorid (Thomasker Finomvegyszer Kft., Magyarország)
- 1 g pepton (Lab M. Limited, UK)
- 1 l desztillált víz
- sterilizálás autoklávban 121 °C-on 15 percig

4.3.2. MRS (de Man, Ragosa, Sharpe) tápleves

Merck KgaG (Darmstadt, Németország)

- kazein pepton 10 g/l
- húskivonat 8 g/l
- élesztő kivonat 4 g/l
- D-glükóz 20 g/l
- di-kálium-hidrogén-foszfát 2 g/l
- Tween 80 1 ml/l
- di-ammónium-hidrogén-citrát 2 g/l
- nátrium-acetát 5 g/l
- magnézium-szulfát 0,2 g/l
- mangán-szulfát 0,04 g/l
- 1 l desztillált víz
- sterilizálás autoklávban 121 °C-on 15 percig

4.3.3. MRS (de Man, Ragosa, Sharpe) tápagar

Merck KgaG (Darmstadt, Németország)

- kazein pepton 10 g/l
- húskivonat 8 g/l
- élesztő kivonat 4 g/l
- D-glükóz 20 g/l
- di-kálium-hidrogén-foszfát 2 g/l
- Tween 80 1 ml/l
- di-ammónium-hidrogén-citrát 2 g/l
- nátrium-acetát 5 g/l
- magnézium-szulfát 0,2 g/l
- mangán-szulfát 0,04 g/l
- agar 15 g/l
- 1 l desztillált víz
- sterilizálás autoklávban 121 °C-on 15 percig

4.3.4. PCA (Plate Count Agar) tápagar

Merck KgaG (Darmstadt, Németország)

- kazein pepton 5 g/l
- élesztő kivonat 2,5 g/l
- glükóz 1 g/l
- agar 15 g/l
- 1 l desztillált víz
- sterilizálás autoklávban 121 °C-on 15 percig

4.4. A gélelektroforézis során használt oldatok és vegyszerek

4.4.1. Nátrium-dodecil-szulfát gélelektroforézis (SDS-PAGE)

A 15%-os főgél összetétele:

- 4 ml 30%-os akrilamid (BioRad Acrylamide/Bis Solution 29:1)
- 1,8 ml 2 M-os trisz-(hidroxi-metil)-amino-metán (TRIS) puffer (pH = 8,8)
- 50 µl 10%-os SDS
- 2,6 ml desztillált víz
- 6 µl N,N,N',N'-tetrametil-etilén-diamin (TEMED)
- 50 µl perszulfát oldat (100 mg ammónium-peroxi-diszulfát és 1 mL desztillált víz)

A 6%-os gyűjtőgél összetétele:

- 1 ml 30%-os akrilamid (BioRad Acrylamide/Bis Solution 29:1)
- 55 µl 10%-os SDS
- 3,2 ml desztillált víz
- 6 µl TEMED
- 50 µl perszulfát oldat

A futtatáshoz használt puffer összetétele:

- 3,03 g TRIS
- 14,4 g glicin
- 1 g SDS
- 1 l desztillált víz

A mintaoldószer összetétele:

- 0,189 g TRIS
- 0,5 g SDS
- 21,2 ml desztillált víz
- 2,5 ml glicerin
- 2,5 ml β-merkaptó-etanol

- 20%-os triklór-ecetsav
- PAGE gélmosó
- 0,2%-os Coomassie Brilliant Blue R-250
- 10%-os ecetsav

4.4.2. Natív gélelektroforézis (natív PAGE)

A 15%-os főgél összetétele:

- 4 ml 30%-os akrilamid (BioRad Acrylamide/Bis Solution 29:1)
- 1,8 ml 2 M-os trisz-(hidroxi-metil)-amino-metán (TRIS) puffer (pH = 8,8)
- 2,6 ml desztillált víz
- 6 µl N,N,N',N'-tetrametil-etilén-diamin (TEMED)
- 50 µl perszulfát oldat (100 mg ammónium-peroxi-diszulfát és 1 mL desztillált víz)

A 6%-os gyűjtőgél összetétele:

- 1 ml 30%-os akrilamid (BioRad Acrylamide/Bis Solution 29:1)
- 3,2 ml desztillált víz
- 6 µl TEMED
- 50 µl perszulfát oldat

A futtatáshoz használt puffer összetétele:

- 3,03 g TRIS
- 14,4 g glicin
- 1 l desztillált víz

A mintaoldószer összetétele:

- 0,189 g TRIS
- 21,2 ml desztillált víz
- 2,5 ml glicerin
- 2,5 ml β-merkapto-etanol

- 20%-os triklór-ecetsav
- PAGE gélnmosó
- 0,2%-os Coomassie Brilliant Blue R-250
- 10%-os ecetsav

4.4.3. Tripszin-inhibitor aktivitásának vizsgálata natív gélen enzimes festéssel

A gél összetétele:

- 4,8 mg tripszin
- 30 ml foszfát puffer (0,3 M-os dinátrium-hidrogén-foszfát-dihidrát és desztillált víz)

A festéshez használt anyagok:

- naftil-észter
- dimetil-formamid
- ortodianizidin
- desztillált víz
- foszfát puffer
- 10%-os ecetsav a reakció leállításához

4.5. Tejsavas fermentáció

A teszt hüvelyeseket ledaráltam (Retsch GmbH, Németország) a fermentáció hatékonyságának növelése érdekében. 4-4 üvegbe belemértem 25 g hüvelyes lisztet és 75 ml steril csapvizet, majd 60 °C-os vízfürdőben 20 percig hőkezeltam a mintákat a bennük található összcsíraszám csökkentésének érdekében. Ezt követően jeges vízben hűtöttem le a mintákat és elvégeztem a beoltást. A beoltáshoz használt baktériumokat először felélesztettem, amely során a kiválasztott törzsekből külön-külön MRS táplevesbe oltottam, majd 30 °C-ra beállított inkubátorba helyeztem a táplevest és tesztmikroorganizmust tartalmazó kémcsöveket. 24 órás inkubációt követően a felszaporodott sejteket átoltottam friss MRS táplevesbe és 24 órára inkubátorba helyeztem.

A minták beoltása előtt 4 °C-on 6000 fordulat/perc sebességen 15 percig centrifugáltam a baktériumokat. Steril fürke alatt pipetta segítségével hozzáadtam az előkészített mintákhoz 200 µl tejsavbaktériumot. A mintákat 25 °C-on inkubáltam. A tárolási kísérletet is szobahőmérsékleten végeztem.

A sárgaborsó vizsgálati minták kódszámait a 9. táblázat, a lencse mintákét a 10. táblázat tartalmazza.

9. táblázat: A vizsgált sárgaborsó minták

Minta sorszáma	Vizsgálati minta	Minta kódszáma
1.	sárgaborsóliszt	SB
2.	hőkezelt sárgaborsóliszt	SB ^{°C60}
3.	hőkezelt, 2142-vel fermentált sárgaborsóliszt	SB ^{°C60} -F(2142)
4.	hőkezelt, GG-vel fermentált sárgaborsóliszt	SB ^{°C60} -F(GG)
5.	hőkezelt, Shiota-val fermentált sárgaborsóliszt	SB ^{°C60} -F(Shiota)
6.	hőkezelt, LB-H-val fermentált sárgaborsóliszt	SB ^{°C60} -F(LB-H)
7.	hőkezelt, 2142-vel fermentált sárgaborsóliszt tárolás után	SB ^{°C60} -F(2142)-T
8.	hőkezelt, GG-vel fermentált sárgaborsóliszt tárolás után	SB ^{°C60} -F(GG)-T
9.	hőkezelt, Shiota-val fermentált sárgaborsóliszt tárolás után	SB ^{°C60} -F(Shiota)-T
10.	hőkezelt, LB-H-val fermentált sárgaborsóliszt tárolás után	SB ^{°C60} -F(LB-H)-T

10. táblázat: A vizsgált lencse minták

Minta sorszáma	Vizsgálati minta	Minta kódszáma
11.	lencseliszt	L
12.	hőkezelt lencseliszt	L ^{°C60}
13.	hőkezelt, 2142-vel fermentált lencseliszt	L ^{°C60} -F(2142)
14.	hőkezelt, GG-vel fermentált lencseliszt	L ^{°C60} -F(GG)
15.	hőkezelt, Shiota-val fermentált lencseliszt	L ^{°C60} -F(Shiota)
16.	hőkezelt, LB-H-val fermentált lencseliszt	L ^{°C60} -F(LB-H)
17.	hőkezelt, 2142-vel fermentált lencseliszt tárolás után	L ^{°C60} -F(2142)-T
18.	hőkezelt, GG-vel fermentált lencseliszt tárolás után	L ^{°C60} -F(GG)-T
19.	hőkezelt, Shiota-val fermentált lencseliszt tárolás után	L ^{°C60} -F(Shiota)-T
20.	hőkezelt, LB-H-val fermentált lencseliszt tárolás után	L ^{°C60} -F(LB-H)-T

4.5.1. pH-mérés

A fermentáció és a tárolási kísérlet során előre meghatározott időpontokban pipetta segítségével 4-4 ml mintát vettem a vizsgált fermentált hüvelyesekből és megmértem az aktuális pH-értéket, oldott szárazanyagtartalmat, titrálható savtartalmat, valamint a tejsavbaktériumok koncentrációját.

A pH-mérést Mettler Toledo SevenEasy (Mettler-Toledo GmbH, Svájc) digitális pH-mérővel végeztem. A mérés előtt a pH mérő készüléket a megfelelő pufferoldatok - pH = 7,00 és pH = 4,01 - segítségével kalibráltam az elektródát desztillált vízzel lemostam és 70%-os etil-alkohollal fertőtlenítettem.

4.5.2. Oldott szárazanyagtartalom meghatározása

A mérést digitális kézi refraktométerrel (SH, DHR 85 B 1, Schmidt + Haensch GmbH, Svájc) végeztem el, a módszer a fénytörés jelenségén alapul. Legfőbb felhasználási területe a cukortartalom mérésre, a műszer kijelzőjén megjelenő Brix%-érték megegyezik a vizsgált minta százalékban kifejezett cukortartalmával (Farkas et al., 2004).

4.5.3. Titrálható savtartalom meghatározása

A fermentációs folyamat során 0,2 M-os nátrium-hidroxid (Thomasker Finomvegyszer Kft., Magyarország) mérőoldattal vizsgáltam a minták titrálható savtartalmának változását. Titrálás során a mérőoldatot buretta segítségével adagoltam a mintához, amíg a reakció maradék nélkül lejátszódott, vagyis az egyenértékpont eléréséig.

Az ekvivalenciapont észlelését indikátor vegyületek segítik. Ezek olyan szerves vegyületek, melyek a titrálás során bekövetkező jelentős kémiai változás hatására színváltozással reagálnak. A megfelelő indikátor kiválasztása a mérés egyik legfontosabb része. Én az egyenértékpont meghatározásához fenolftaleint választottam, ami a leggyakrabban alkalmazott sav/bázis indikátorok egyike. Átcsapási tartománya $pK = 8,2-10,2$ közé esik, a lúgos kémhatásra halvány lila színnel reagál (Lászlai and Fodor, 1999).

4.5.4. Telepszám meghatározása

4.5.4.1. Összcsíraszám meghatározása

A fermentációt megelőző hőkezelés időtartamának meghatározásához először meg kellett vizsgálnom, hogy mennyi idő szükséges a hüvelyesek összcsíraszámának megfelelő mennyiségre való csökkentéséhez.

90 ml peptonvizet adtam 10 g hüvelyes liszthez. Az így készült elegyet 60 °C-os vízfürdőbe tettem, majd 5, 10 és 20 perc elteltével mintát vettem belőle. Fülke alatt a jeges vízben lehűtött törzsoldatokból tízszeres tova futó hígítást végeztem a 4. tagig.

Steril Petri-csészékbe 20-20 ml, megközelítőleg 50 °C-os PCA agart öntöttem. A táptalaj megszilárdulása után szélesztőbot segítségével 100-100 µl mintát elosztottam a felületén. Ezt követően a mintákat 30 °C-on inkubáltam és 48 óra elteltével leszámoltam a képződött telepeket. A lemezek kiértékelése alapján a 20 percig tartó hőkezelés hozta a számomra megfelelő eredményeket, így ezt az időtartamot választottam minták fermentációt megelőző hőkezeléséhez.

4.5.4.2. *Lactobacillus* törzsek élősejtszámának meghatározása

A vizsgált *Lactobacillus* törzsek sejtszámának meghatározását Miles & Misra módszerével végeztem. Steril Petri-csészékbe 20-20 ml, megközelítőleg 50 °C-os MRS agart öntöttem. Miután a táptalaj kellőképpen megszilárdult, a vizsgált mintákból tízszeres tova futó hígítást készítettem, majd 3., 4. és 5. hígítási tagból 20-20 µl-t az agar felületére pipettáztam, minden hígítási tag esetén három párhuzamos mérést végeztem. A megszilárdulást követően 30 °C-on 48 órán keresztül inkubáltam, majd kiértékeltem a mintákat (2. ábra).

A számlálást azokon a cseppterületeken végeztem, amelyek a legnagyobb számú kolóniát tartalmazzák, anélkül, hogy az összefolyás vagy a kolóniák túlszűfolttság miatti durva méretcsökkenés jelei mutatkoznának. A sejtkoncentrációt a telepek számának átlagából számoltam ki (Miles et al., 1938).



2. ábra: *Lactobacillus rhamnosus* GG baktériummal beoltott lense minta, 72 órás mintavétel kiértékelése

4.6. Liofilizálás

A liofilizálás - más néven fagyasztva szárítás - egy kombinált tartósítási eljárás, melynek során a víztartalom kíméletesen távolítható el. A kiszárítani kívánt terméket megfagyasztják, majd a benne képződött jeget vákuumban, enyhe melegítés mellett elpárologtatják. Amellett, hogy a termék minőségében és szerkezetében nem okoz negatív irányú változást, a mikroorganizmusokat is védi a pusztító hatásoktól. Emiatt mikroorganizmusok tartósítása során is előszeretettel alkalmazzák, az ezzel a módszerrel tartósított törzsek akár 10-20 évig is eltarthatók (Deák et al., 2006).

A minták liofilizálásához a Christ Alpha 1-4 LSC (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Németország) berendezést használtam.

4.7. Gélelektroforézis

4.7.1. Nátrium-dodecil-szulfát gélelektroforézis (SDS-PAGE)

A Laemmli egy SDS tartalmú pufferrendszer. A módszer lényege, hogy a fehérjéket nátrium-dodecil-szulfátot és β -merkaptóetanolt tartalmazó pufferben történő melegítéssel dehidratálják. Az így kapott polipeptidek molekulatömegükkel arányos, egyenletes töltés-

tömeg arányt vesznek fel. A fehérjék a molekulatömegük szerint különülnek el (Laemmli, 1970).

5 mg liofilizált mintát oldottam 250 µl mintaoldó pufferrel, amiből Hamilton-fecskendő segítségével felvittem a géltre zsebenként 6-6 µl-t. A mérést a BioRad Mini-PROTEAN 3 (BioRad Power Pac1000) készülékkel végeztem, konstans 200 V feszültség, 54 mA áramerősség és 11 W teljesítmény mellett 55 percig. A gélek futtatása után 20 percig fixáltam a gél 20%-os triklór-ecetsavval, majd 15 percig mostam PAGE gélmosóval. A festést 0,2%-os Coomassie Brilliant Blue R-250 festékkel szintén 15 percig végeztem. A háttérből a felesleget 10%-os ecetsavval távolítottam el.

Az elkészült géleket az Azure200 és a BioRad Gel Doc 2000 géldokumentáló rendszerekkel rögzítettem.

4.7.2. Natív gélelektroforézis (natív PAGE)

A natív PAGE a biológiailag aktív fehérjék elválasztására szolgáló módszer. Az SDS-PAGE-vel ellentétben a fehérjék mozgékonyága natív PAGE esetén a mérettől és a töltéstől is függ. A fehérjék natív PAGE rendszerben történő elválasztásának kulcsfontosságú paraméterei a vizsgált fehérje izoelektromos pontja és a puffer oldat pH-értéke (Laemmli, 1970).

A gélek elkészítése megegyezik az SDS-PAGE elvégzéséhez szükséges gélekével, azzal a különbséggel, hogy natív PAGE esetén sem a gél, sem a mintaoldószer nem tartalmaz nátrium-dodecil-szulfátot.

4.7.3. Tripszin-inhibitor aktivitásának vizsgálata natív gélen enzimes festéssel

A gél laphoz 0,16 mg/ml koncentrációjú tripszin szükséges, tehát 4,8 mg tripszint feloldottam 30 ml foszfát pufferben.

A foszfát puffer összeállításához két oldatra van szükség. Az első oldat 13,349 g 0,3 M-os nátrium-hidrogén-foszfát-dihidrátot tartalmaz, amit egy 250 ml-es főzőpohárba mértem be és desztillált vízzel jelre töltöttem. A második oldathoz a nátrium-hidrogén-foszfát-dihidrátból 11,7 g-ot mértem be egy 250 ml-es főzőpohárba és az előző esethez hasonlóan jelre töltöttem desztillált vízzel. A kész oldatokat külön-külön összekevertem, majd egy tiszta mérőhengerbe belemértem az elsőből 120, a másodikból 80 ml-t, így kaptam meg a szükséges foszfát puffert.

A bemérésnél 5 mg liofilizált mintát vittem fel és 60 μ l mintaoldó puffert adtam hozzá. Ebből 5-5 μ l-t mértem be Hamilton-fecskendővel minden zsebbe, a standard koncentrációjú KTI-ből pedig 3 μ l-t. A futtatást a korábbiakkal megegyező paraméterek mellett ($U = 200$ V, $I = 54$ mA, $P = 11$ W). Az 55 perc letelte után a gél tripszint tartalmazó pufferben 30 percig inkubáltam 43 °C-on, majd desztillált vízzel leöblítettem.

A festéshez ismét két oldat elkészítésére volt szükség. Az „A” oldat 25 mg naftil-észter 10 ml dimetil-formamidban oldva. A „B” oldat 42 mg ortodianizidin 38,5 ml desztillált vízben feloldva, amit közvetlenül a felhasználás előtt 77 ml-re fel kell tölteni a korábban elkészített foszfát pufferrel. Amikor mindkét oldat elkészült összeöntöttem őket és beletettem a gél és rázatas mellett megfestettem. A reakciót 10%-os ecetsavval állítottam le.

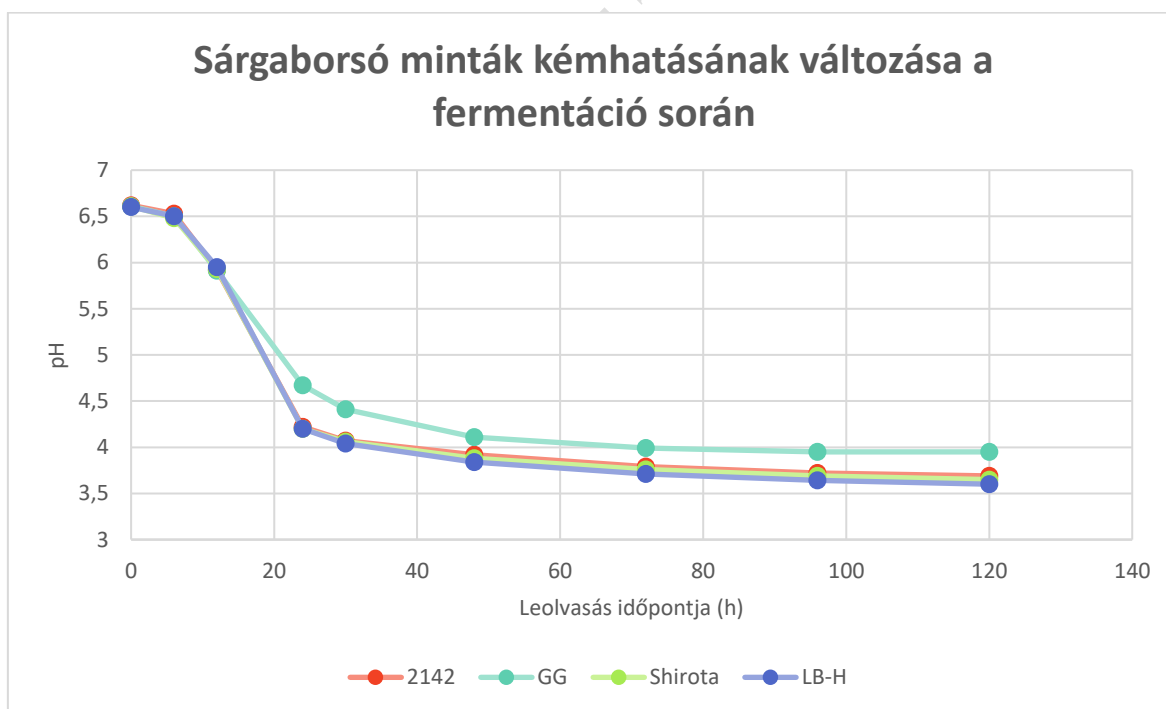
5. Eredmények és értékelésük

5.1. Tejsavas fermentáció

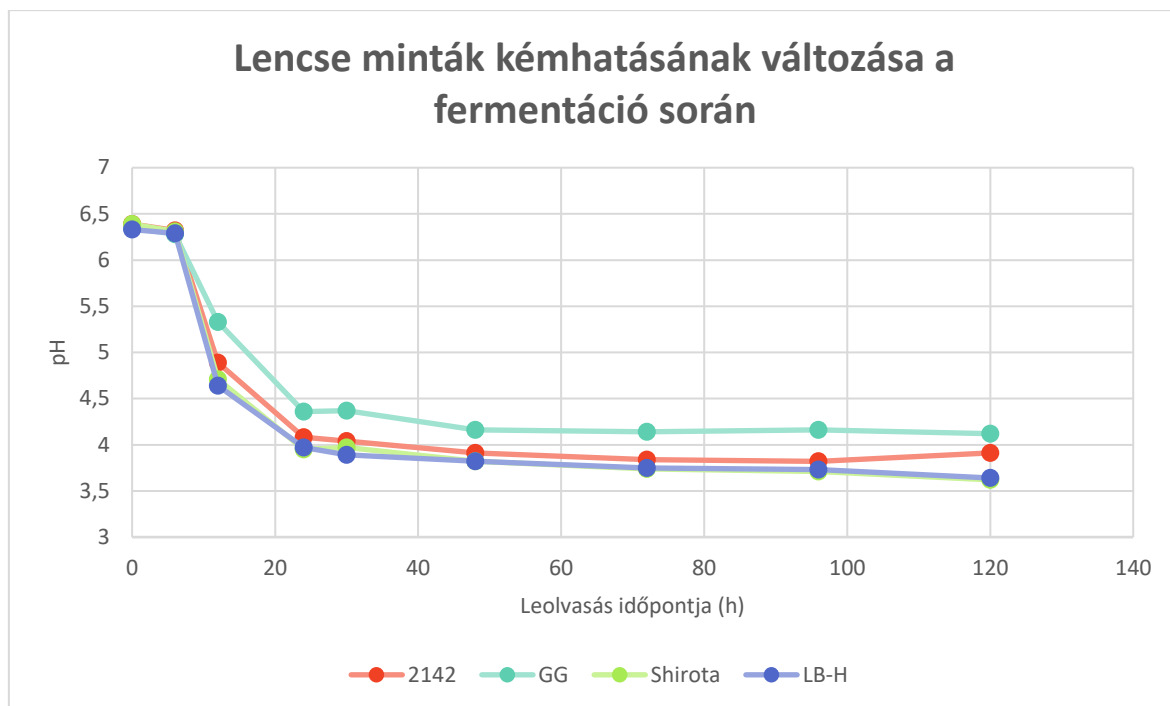
A fermentációt a 8. táblázatban felsorolt tejsavbaktériumokkal végeztem el, mintavétel közvetlenül a beoltás után, majd 6, 12, 24, 30, 48, 72, 96, 120 és 144 óránál történt. A tejsavas erjesztés hatását vizsgáltam a minták kémhatásának, oldott szárazanyagtartalmának, titrálható savtartalmának és sejtkoncentrációjának változására. A kiindulási értékeket a 11. táblázat tartalmazza.

11. táblázat: Sárgaborsó és lencse minták beoltás utáni átlagos induló kémhatása, oldott szárazanyagtartalma, titrálható savtartalma és sejtkoncentrációja

	Sárgaborsó	Lencse
Kémhatás	pH = 6,61	pH = 6,37
Oldott szárazanyagtartalom	Brix% = 9,1	Brix% = 7,8
Titrálható savtartalom	0,0205 m/m%	0,0230 m/m%
Sejtkoncentráció	$3,69 \times 10^6$ TKE/ml	$3,85 \times 10^6$ TKE/ml



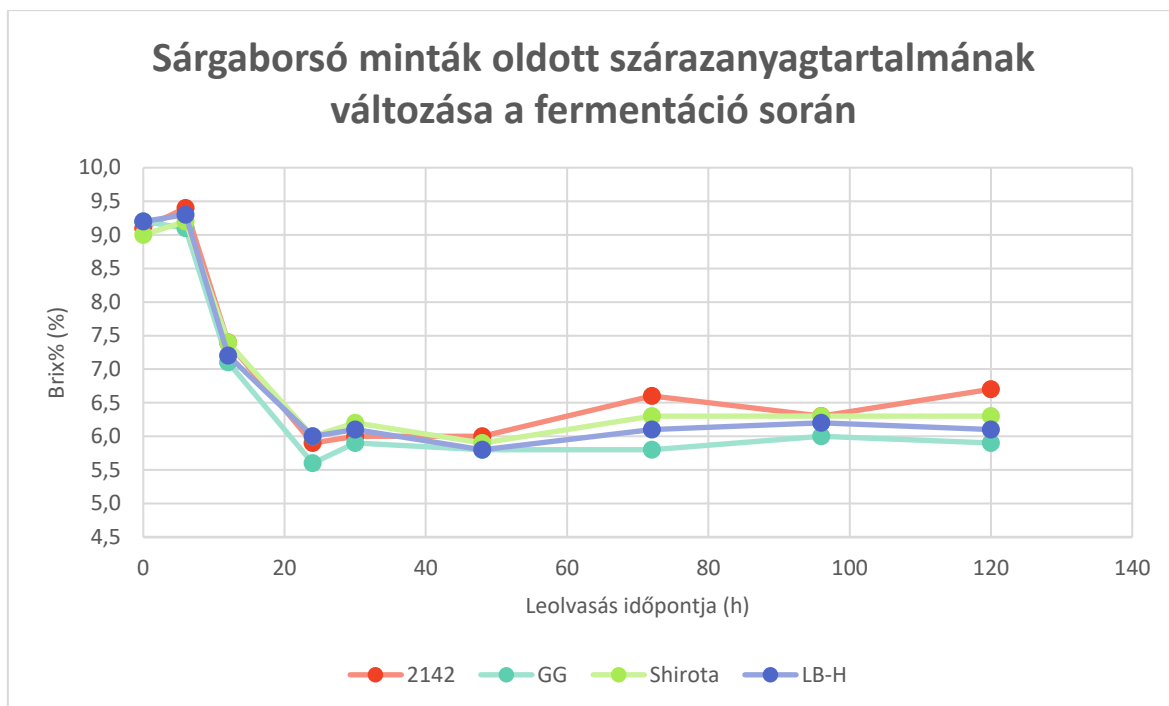
3. ábra: Sárgaborsó minták kémhatásának változása a fermentáció során



4. ábra: Lencse minták kémhatásának változása a fermentáció során

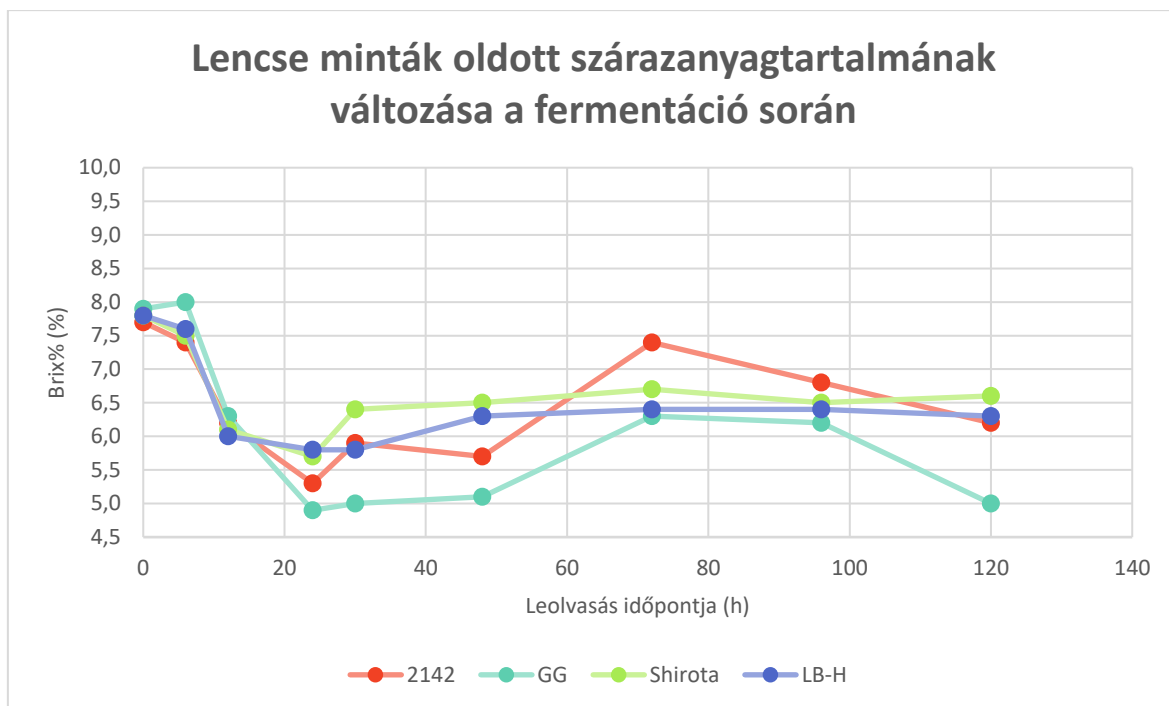
A kémhatás változása a várt eredményeket hozta, a minták pH-ja a beoltást követően először kisebb mértékben csökkent, majd a 24 órás mintavételre - a *Lactobacillus rhamnosus* GG baktériumtörzsszel beoltott sárgaborsó mintát leszámítva - minden esetben lecsökkent pH = 4,5 érték alá. Amikor a minták kémhatása elérte a pH = 4,0 körüli értéket, a csökkenés mértéke lelassult (3. és 4. ábra). A legalacsonyabb végső pH-érték a sárgaborsónál az LB-H, a lencsénél a Shirota és az LB-H törzsszel beoltott mintákban figyelhető meg, itt alakult ki a leginkább savas kémhatás. A legmagasabb értéket pedig mindkét hüvelyes esetében a GG-vel beoltott minta mutatta.

A fermentációs folyamat végére minden minta biztonságosnak mondható mikrobiológiai szempontból, mivel a kialakult savas közeg (pH < 4,5) gátolja más, nemkívánatos mikroorganizmusok szaporodását.



5. ábra: Sárgaborsó minták oldott szárazanyagtartalmának változása a fermentáció során

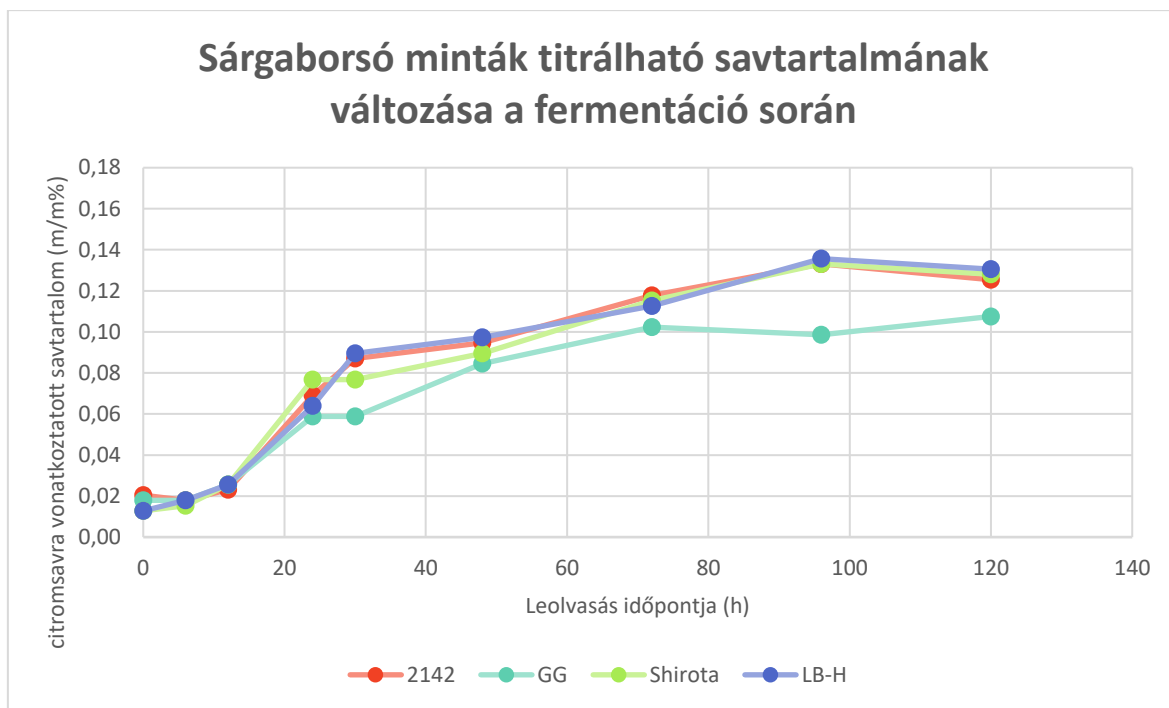
A sárgaborsó minták kiindulási oldott szárazanyagtartalma (5. ábra) a fermentáció kezdetén folyamatosan csökkent a 24 órás mintavételig a *Lactobacillus* törzsek gyors elszaporodása miatt. Ezt követően kis mértékű növekedést tapasztaltam, ami azzal magyarázható, hogy a kialakult savas környezet hatására a mintákban lévő tápanyagok oldott állapotba kerültek.



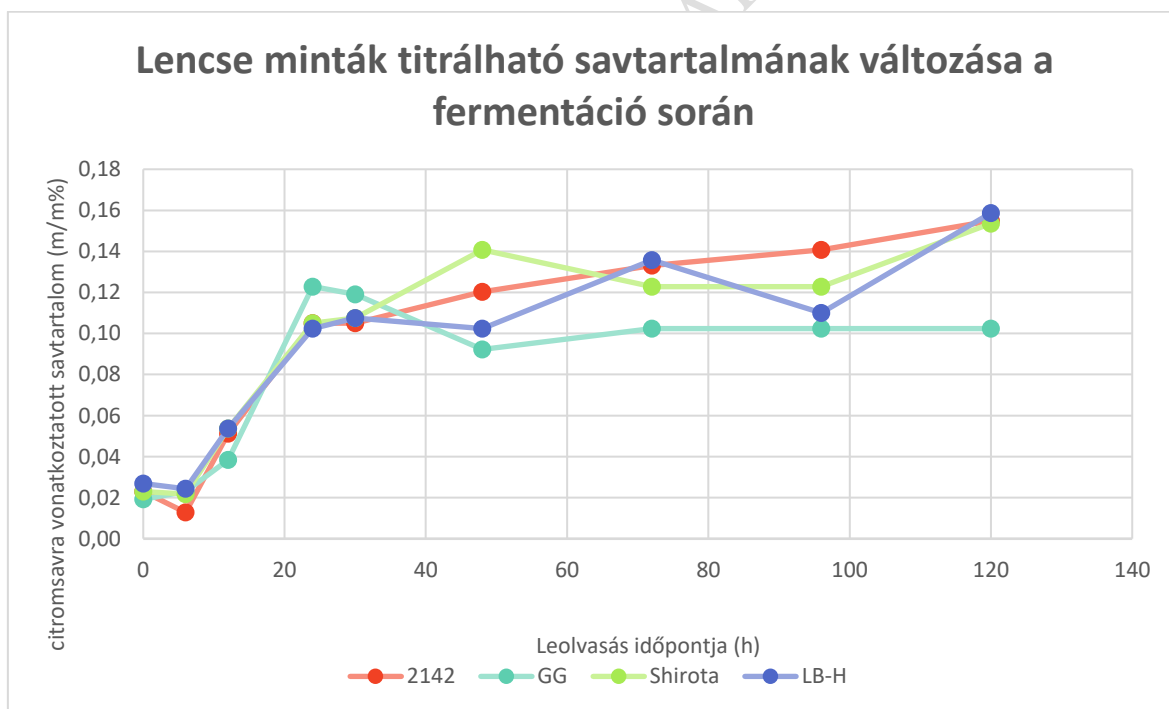
6. ábra: Lencse minták oldott szárazanyagtartalmának változása a fermentáció során

A 6. ábra a lencse szárazanyagtartalmának változását mutatja be. A sárgaborsóhoz hasonlóan kezdetben folyamatosan csökkent a minták oldott szárazanyag tartalma, majd enyhe növekedés indult el, ami a 30 órás mintavételt követően a Shirota és az LB-H baktériumtörzsekkel beoltott mintáknál beállt egy állandó (Brix% = 6,5 és Brix% = 6,4) értékre. A 2142-vel és GG-vel beoltott minták esetében az enyhe növekedést az oldott szárazanyag tartalom csökkenése követte. Ennek oka, hogy a baktériumok hasznosítani tudták az alacsony pH miatt oldott állapotba került tápanyagokat.

A minták titrálható savtartalmát a nátrium-hidroxid mérőoldat fogyásából átszámolva citromsavra vonatkoztatva adtam meg.



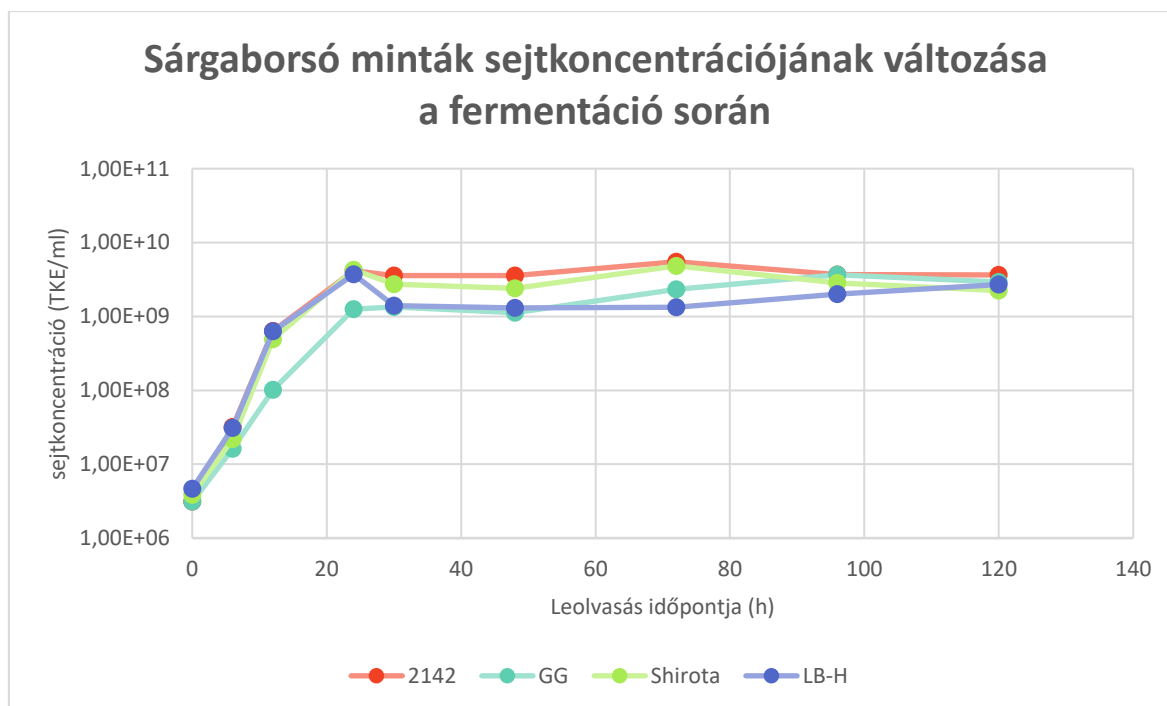
7. ábra: Sárgaborsó minták titrálható savtartalmának változása a fermentáció során



8. ábra: Lencse minták titrálható savtartalmának változása a fermentáció során

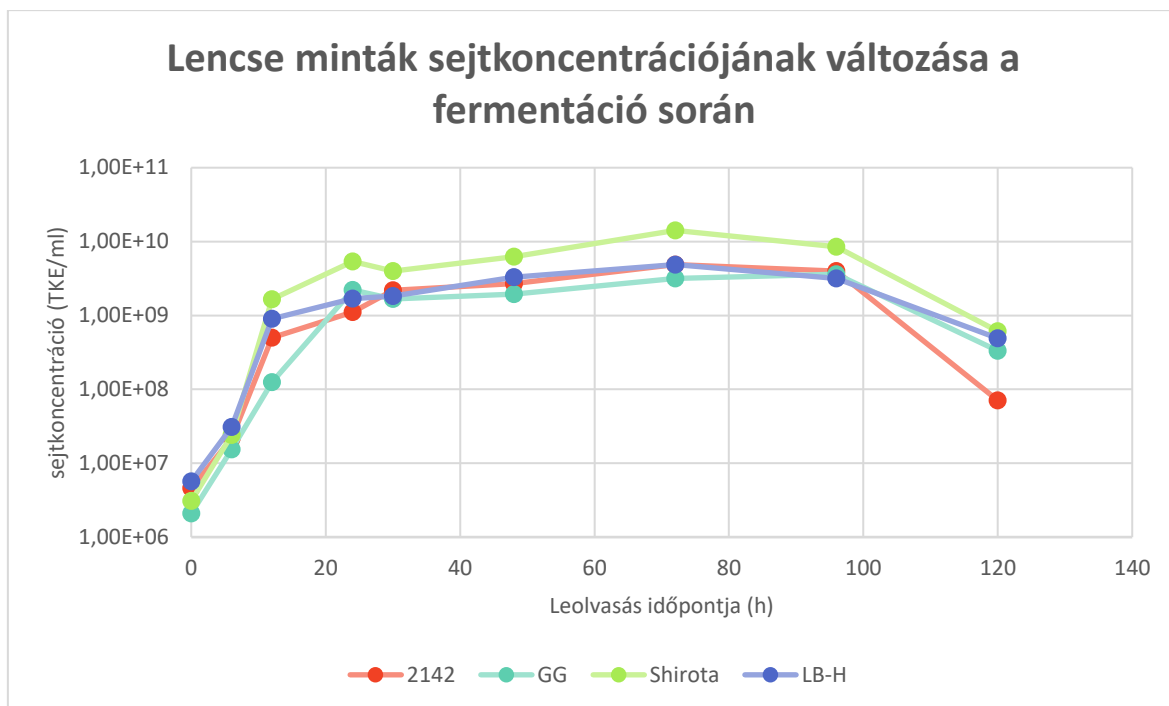
Mindkét hüvelyes esetében elmondható, hogy a titrálható savtartalom arányosan nőtt a minták kémhatásának csökkenésével (7. és 8. ábra).

Az induló sejtszám a sárgaborsó minták esetében átlagosan $3,69 \times 10^6$ TKE/ml, lencse minták esetében $3,85 \times 10^6$ TKE/ml volt (11. táblázat). Mindkét hüvelyesnél a 24 órás mintavételig volt tapasztalható a leggyorsabb sejtkoncentráció-növekedés (9. és 10. ábra).



9. ábra: Sárgaborsó minták sejtkoncentrációjának változása a fermentáció során

A 9. ábrán egyértelműen látszik, hogy a 24 órás mintavételt követően léptek be a *Lactobacillus* törzsek a stationer fázisba, csak enyhe növekedés, illetve csökkenés tapasztalható, az életben maradt sejtek száma viszonylag állandó. 120 óra inkubálás után a sejtkoncentráció még mindig meghaladta a $2,2 \times 10^9$ TKE/ml-t.

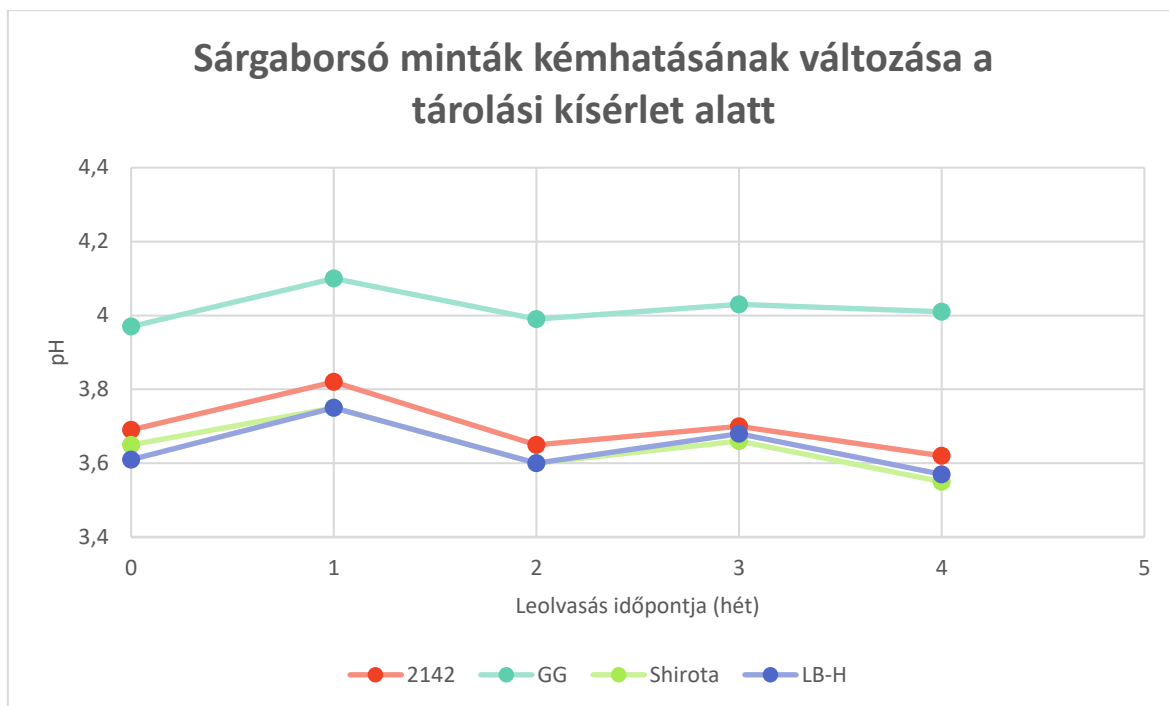


10. ábra: Lencse minták sejtkoncentrációjának vizsgálata a fermentáció során

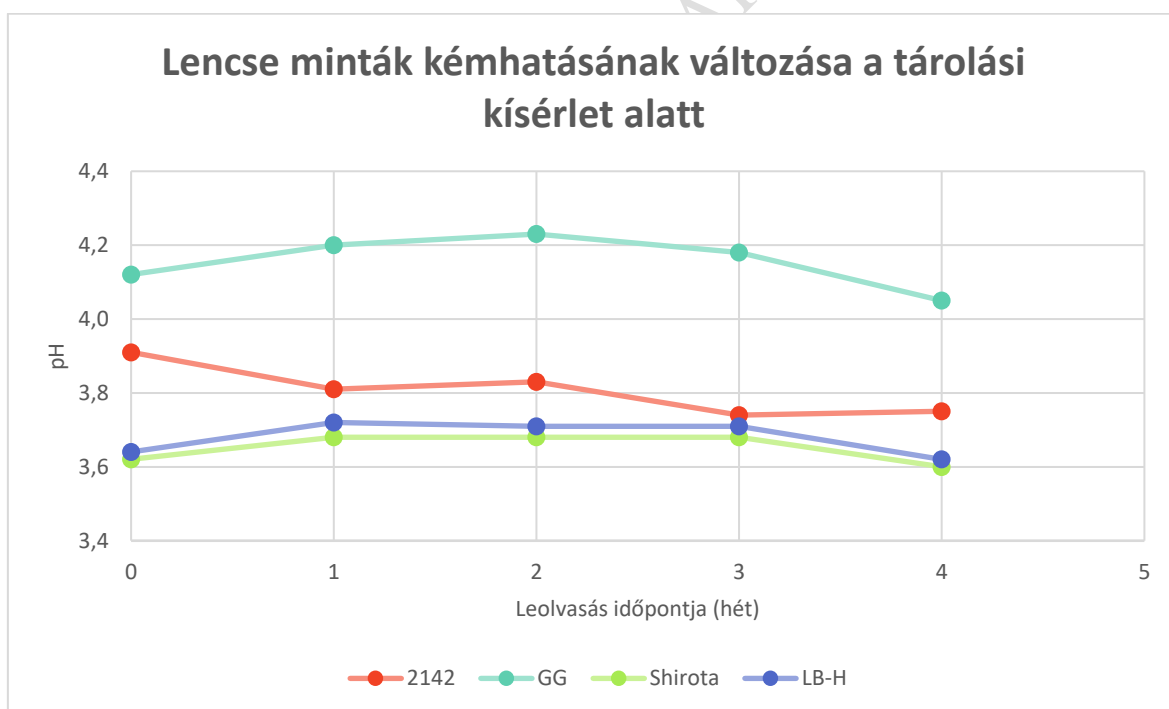
A fermentált lencse minták esetében a sejtszám csökkenése korábban, a 96 órás mintavételt követően kezdődött. A 2142 baktériumtörzsszel beoltott mintát leszámítva a végső sejtkoncentráció meghaladta a $3 \times 10^8 \text{ TKE/ml}$ értéket (10. ábra).

5.2. Tárolási kísérlet

A tejsavas fermentáció után 4 hetes tárolási kísérletet végeztem, melynek során a korábbiakhoz hasonlóan monitoroztam a vizsgálati minták paramétereinek változását.



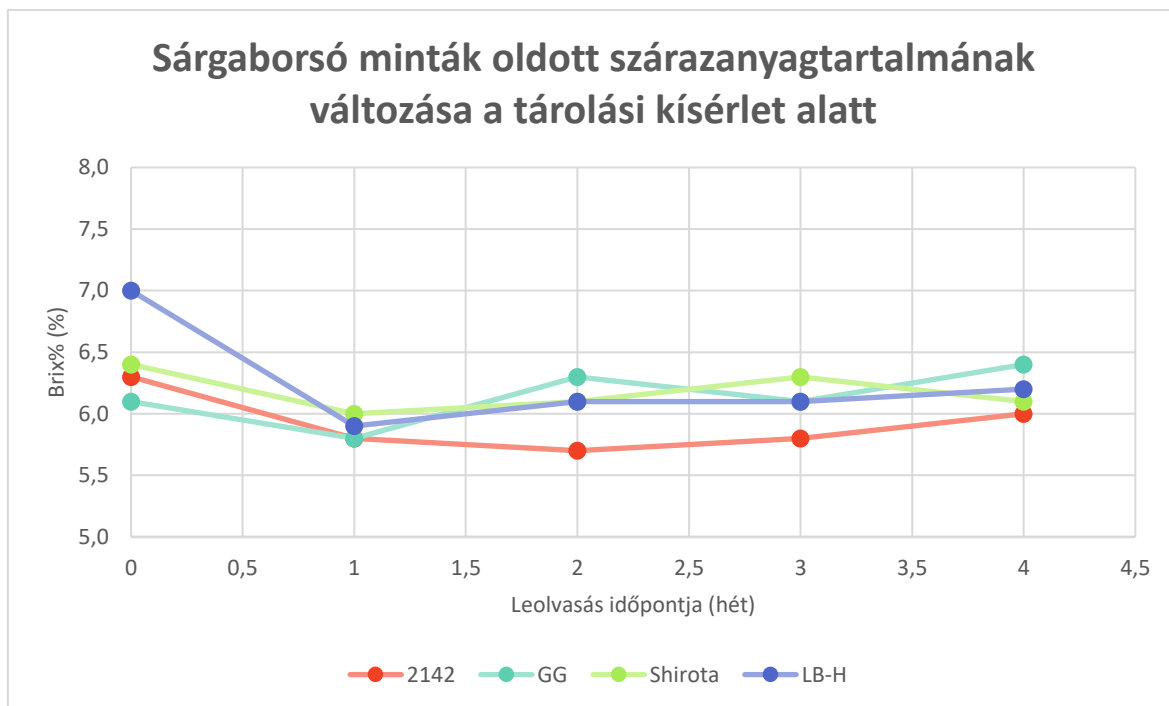
11. ábra: Sárgaborsó minták kémhatásának változása a tárolási kísérlet alatt



12. ábra: Lencse minták kémhatásának változása a tárolási kísérlet alatt

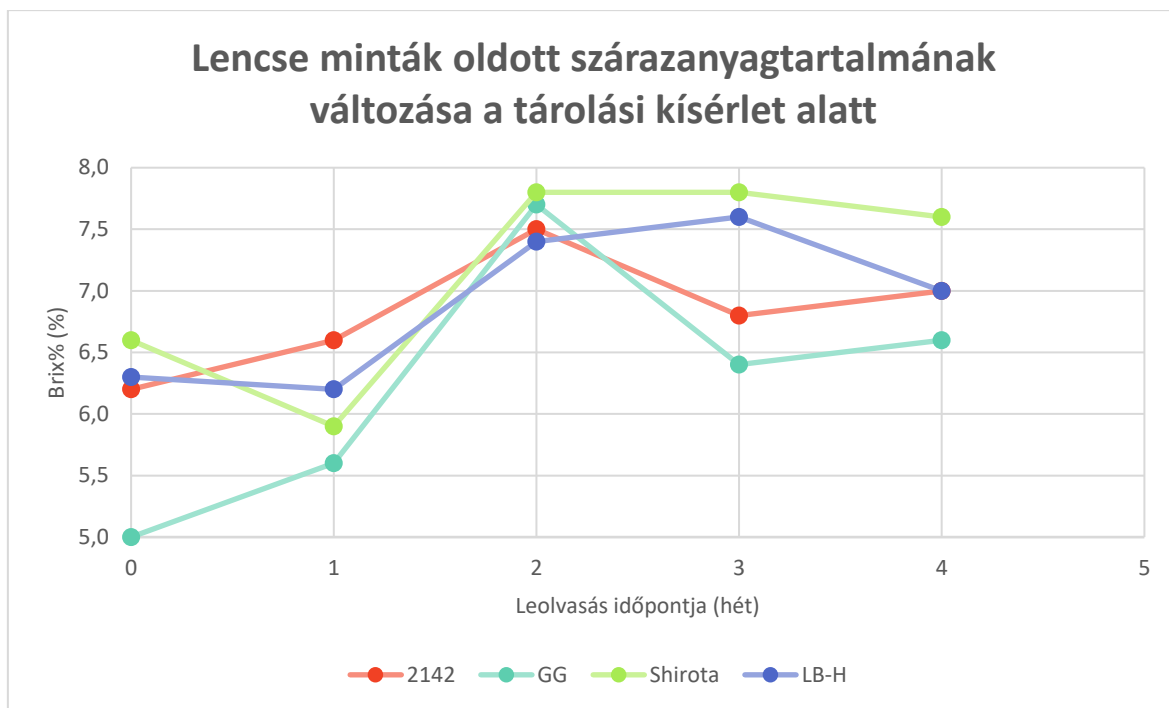
A vizsgált minták kémhatása nem változott jelentős mértékben, végig $\text{pH} = 3,5\text{-}3,75$ között maradt. Ez alól kivételt képez a GG baktériumtörzzsel beoltott minta mindkét hüvelyesnél, itt ugyanis $\text{pH} = 4$ körüli értékeket mértem a mintavételek során (11. és 12.

ábra). A kémhatás azonban egyik minta esetén sem nőtt pH = 4,5 érték fölé, így a tárolási kísérlet végén is mikrobiológiailag biztonságosnak tekinthetők.



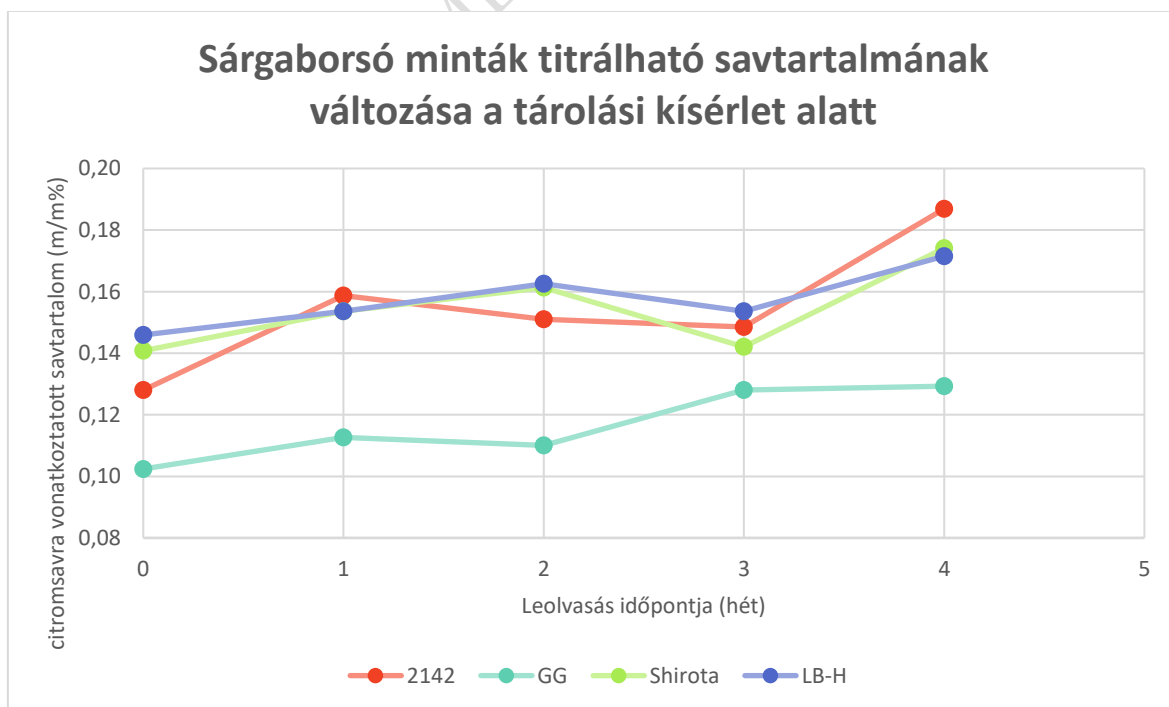
13. ábra: Sárgaborsó minták oldott szárazanyagtartalmának változása a tárolási kísérlet alatt

A 13. ábrán jól látszik, hogy a fermentációt követően az 1 hetes mintavételig tovább csökkent a minták oldott szárazanyagtartalma, majd újra növekedni kezdett. Ez azzal magyarázható, hogy a keletkezett tápanyagokat a *Lactobacillus* törzsek már nem tudták jelentős mértékben hasznosítani.

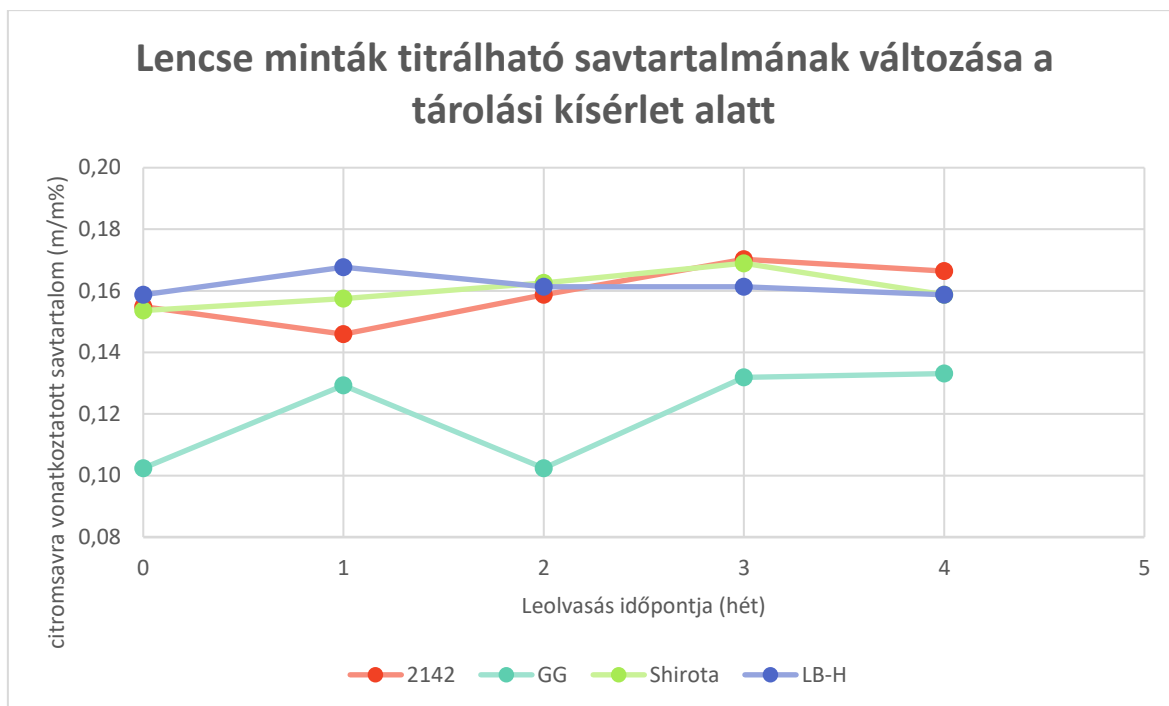


14. ábra: Lencse minták oldott szárazanyagtartalmának változása a tárolási kísérlet alatt

A lencse oldott szárazanyagtartalma a 2. heti mintavételig fokozatosan nőtt a különböző baktériumtörzsekkel beoltott minták esetén, majd ezt követően újra csökkenni kezdett, ahogy az oldott állapotba került tápanyagokat a baktériumok hasznosítani tudták (14. ábra).



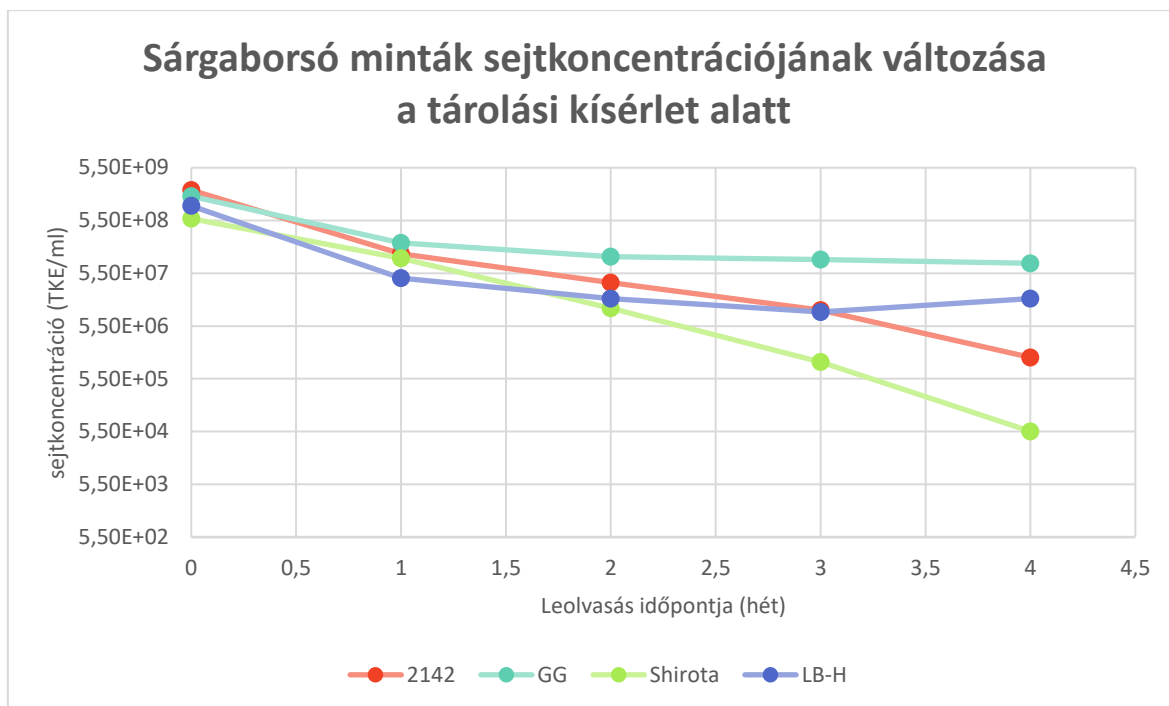
15. ábra: Sárgaborsó minták titrálható savtartalmának változása a tárolási kísérlet alatt



16. ábra: Lencse minták titrálható savtartalmának változása a tárolási kísérlet alatt

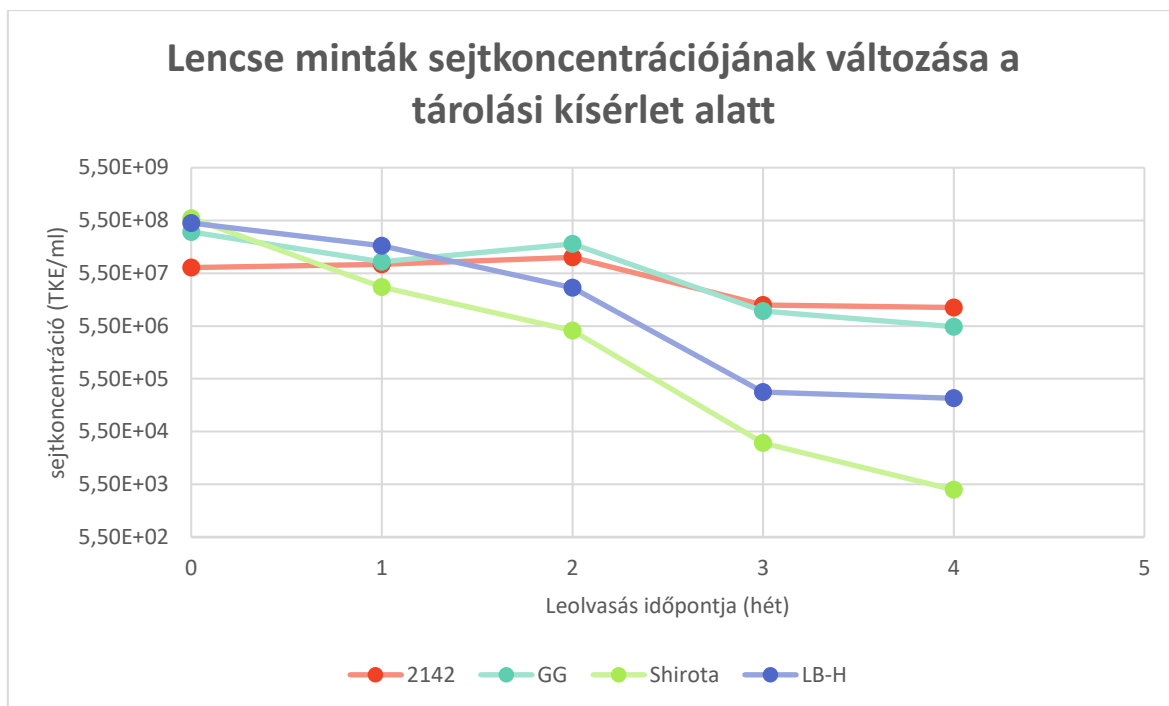
A minták titrálható savtartalma a mért kémhatás alapján várt eredmények szerint alakult (15. és 16. ábra), mindkét hüvelyes esetén viszonylag állandó maradt, és a GG baktériumtörzzsel beoltott mintáknál volt a legalacsonyabb a citromsavra vonatkoztatott savtartalom.

A Magyar Élelmiszerkönyv előírása szerint a fermentált probiotikus élelmiszereknek a minőség megőrzési idő végén is minimum 10^6 TKE/ml élőcsíraszámmal kell rendelkeznie (Magyar Élelmiszerkönyv, 2008).



17. ábra: Sárgaborsó minták sejtkoncentrációjának változása a tárolási kísérlet alatt

A 17. ábrán megfigyelhető, hogy a fermentált sárgaborsó minták tárolása során a *Lactobacillus casei* Shirota-val beoltott minta kivételével a 4. héten az élőcsíraszám minden mintában meghaladta a Magyar Élelmiszerkönyvben meghatározott 10^6 TKE/ml értéket. A *Lactobacillus rhamnosus* GG-vel beoltott minta még a 4. héten történt mintavételnél is meghaladta a $8,5 \times 10^7$ TKE/ml értéket.

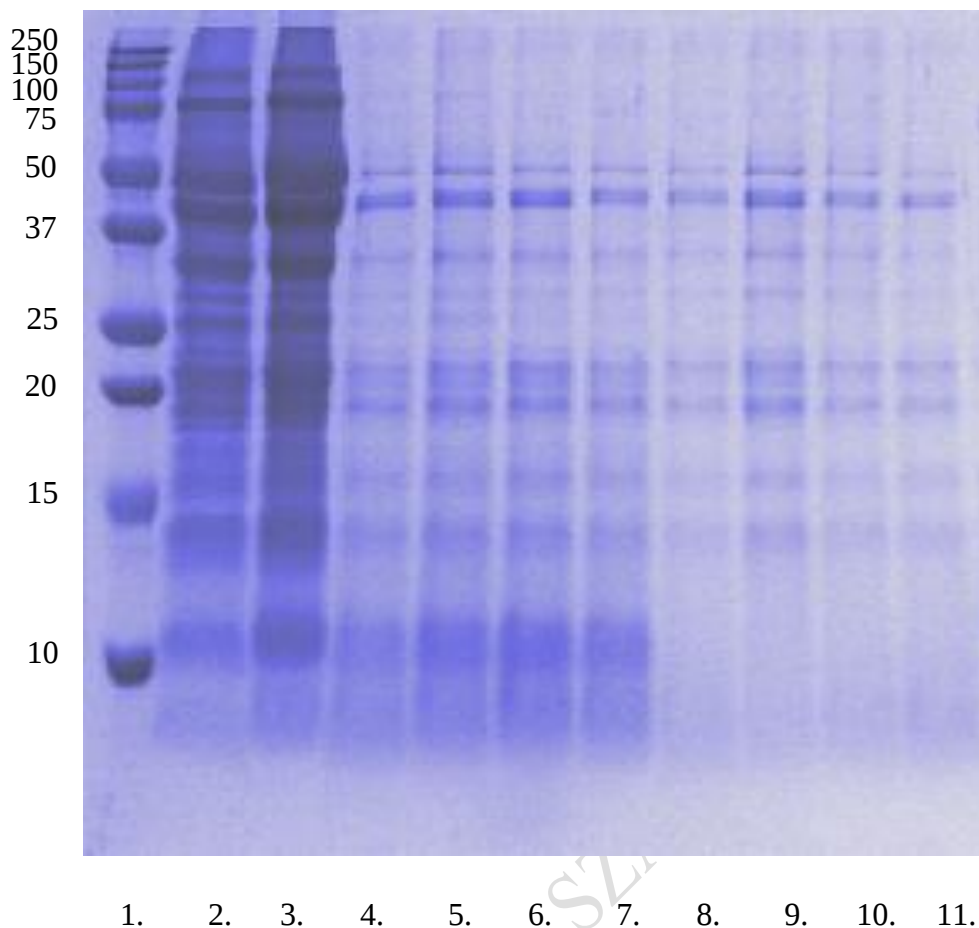


18. ábra: Lencse minták sejtkoncentrációjának változása a tárolási kísérlet alatt

A lencse mintákban jelenlévő *Lactobacillus* élőcsíraszám a fermentációs folyamat végén alacsonyabb volt, mint a sárgaborsó mintákban (9. és 10. ábra). A tárolási kísérlet alatt a Shirota és LB-H baktériummal beoltott lencse minta *Lactobacillus*-sejtkoncentrációja a sárgaborsóhoz viszonyítva nagyobb mértékben csökkent, a 3. héten mindkét esetben a Magyar Élelmiszerkönyv előírásánál alacsonyabb értékeket mértem, a *Lactobacillus plantarum* 2142 és a *Lactobacillus rhamnosus* GG törzsekkel fermentált lencse minták sejtkoncentrációja a 4. hét után is meghaladta a 10^6 TKE/ml értéket (18. ábra).

5.3. A fermentáció és a tárolás hatásának vizsgálata a fehérjékre vonatkozóan

A sárgaborsóliszt, lencseliszt és azok fermentált változatai esetében vizsgáltam a fermentáció hatását a fehérjékre vonatkozóan. Összehasonlítottam a használt tejsavbaktériumokat az alapján, hogy melyik alkalmazásával értem el nagyobb változást a vizsgált hüvelyesek fehérjeeloszlásában.



19. ábra: A fermentáció és a tárolás hatásának nyomonkövetése a sárgaborsó fehérjéire vonatkozóan SDS-PAGE-val

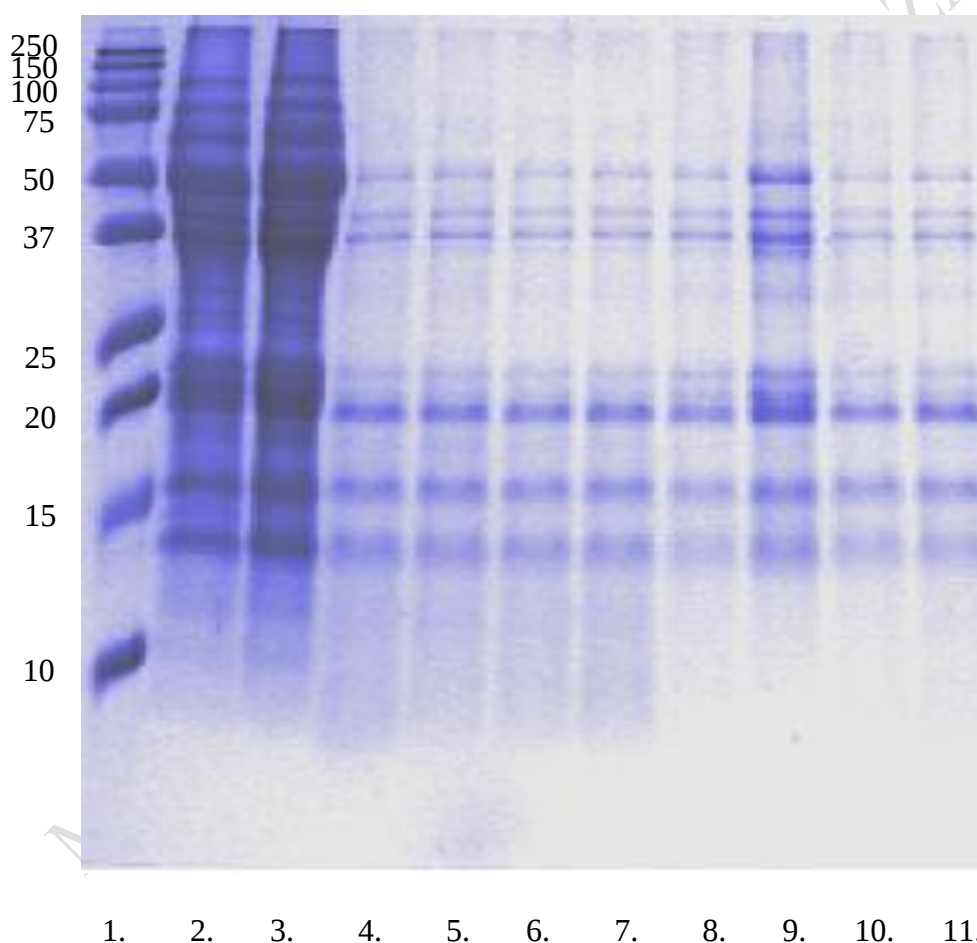
1. molekulatömeg standard: 250, 150, 100, 75, 50, 37, 25, 20, 15, 10 kDa
2. SB
3. SB^{°C60}
4. SB^{°C60}-F(2142)
5. SB^{°C60}-F(GG)
6. SB^{°C60}-F(Shirota)
7. SB^{°C60}-F(LB-H)
8. SB^{°C60}-F(2142)-T
9. SB^{°C60}-F(GG)-T
10. SB^{°C60}-F(Shirota)-T
11. SB^{°C60}-F(LB-H)-T

A sárgaborsóliszt alapú minták fehérjemintázatát a 19. ábra szemlélteti. Jól látható, hogy a kiindulási minta fehérjeeloszlása nem változott jelentős mértékben a 60 °C-os hőkezelés

hatására. A különböző tejsavbaktérium törzsekkel végzett fermentáció azonban jelentős változást idézett elő.

A fehérjék eloszlásában nem tapasztaltam változást, inkább a sávok intenzitásában figyelhető meg nagymértékű csökkenés. A különböző tejsavbaktériumok fehérjebontó képességéről az ábra alapján elmondható, hogy hasonló hatással bírtak a fehérjeeloszlásra.

A 4 hétig tárolt sárgaborsóliszt alapú fermentált mintáknak is megvizsgáltam a tárolás hatására bekövetkező fehérjeeloszlásban esetlegesen megjelenő változásokat. Az ábrán megfigyelhető, hogy a 15 kDa tartomány alatt lévő intenzív fehérjesávok lebomlottak a tárolás során. Itt valószínűsíthető, hogy a tejsavas fermentáció tovább folytatódott.



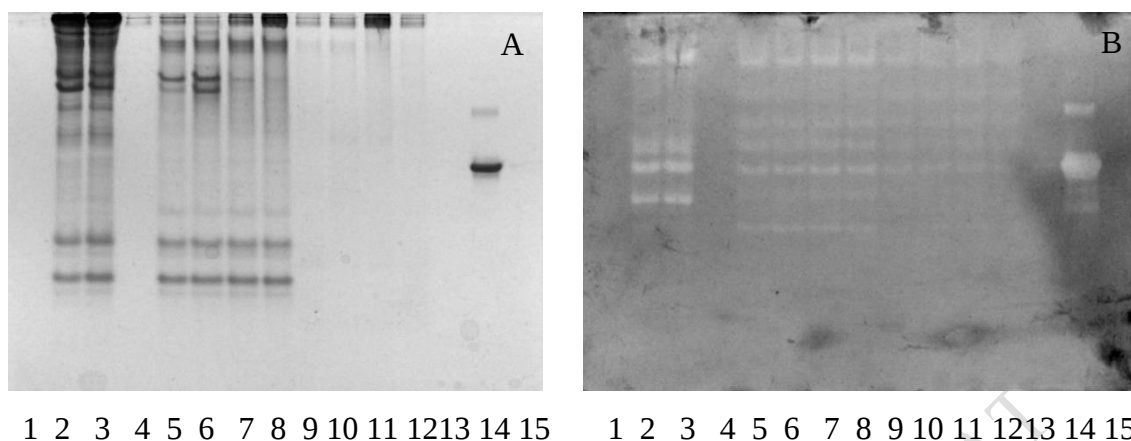
20. ábra: A fermentáció és a tárolás hatásának nyomonkövetése a lencse fehérjéire vonatkozóan SDS-PAGE-val

1. molekulatömeg standard: 250, 150, 100, 75, 50, 37, 25, 20, 15, 10 kDa
2. L
3. L[°]C60
4. L[°]C60-F(2142)
5. L[°]C60-F(GG)
6. L[°]C60-F(Shirota)
7. L[°]C60-F(LB-H)
8. L[°]C60-F(2142)-T
9. L[°]C60-F(GG)-T
10. L[°]C60-F(Shirota)-T
11. L[°]C60-F(LB-H)-T

A lencse esetében (20. ábra) a sárgaborsóhoz hasonló eredmények figyelhetők meg. A hőkezelés nem eredményezett változást a minta fehérjeeloszlásában. A fermentáció hatására minden baktériumtörzs esetén a sávok halványulása figyelhető meg, a törzsek fehérjebontó képessége között a gél alapján nincs látható különbség.

A sárgaborsóliszt alapú mintákhoz hasonlóan itt is megvizsgáltam a 4 hetes tárolás jelentőségét a fehérjék eloszlására. A 15 kDa tartomány alatt látható intenzív fehérjesávok ebben az esetben is elkezdtek lebomlani a tejsavbaktériumok hatására. Az ábra alapján az is elmondható, hogy a *Lactobacillus rhamnosus* GG baktériumtörzs volt a legkevésbé hatékony az inhibitorok minőségi csökkentésének szempontjából.

Megvizsgáltam natív PAGE technikával a sárgaborsóban és lencsében előforduló tripszin-inhibitorokat. A vizsgálatot a szójában megtalálható Kunitz-féle tripszin-inhibitorral szemben néztem.



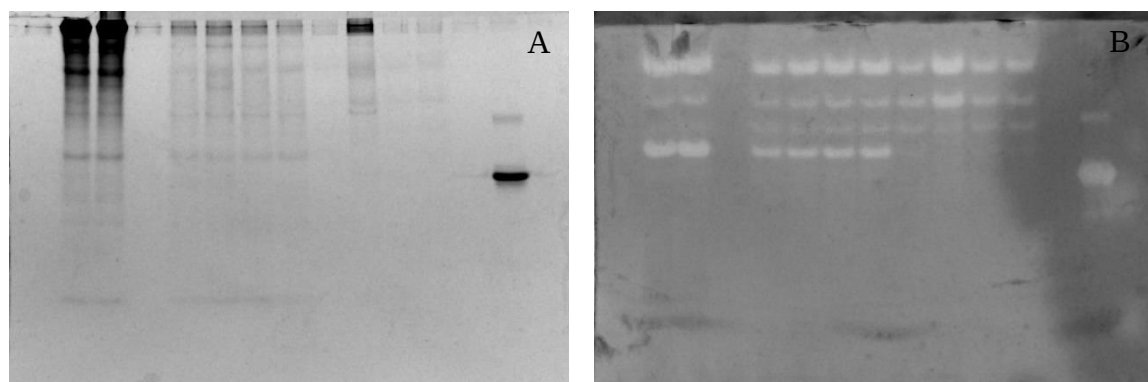
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

21. ábra: A fermentáció és a tárolás hatásának vizsgálata natív PAGE-val a sárgaborsó fehérjéire (A) és annak tripszin-inhibitor fehérjéire (B) vonatkozóan negatív festéssel végzett natív PAGE-val

1. 0
2. SB
3. SB[°]C₆₀
4. 0
5. SB[°]C₆₀-F(2142)
6. SB[°]C₆₀-F(GG)
7. SB[°]C₆₀-F(Shirota)
8. SB[°]C₆₀-F(LB-H)
9. SB[°]C₆₀-F(2142)-T
10. SB[°]C₆₀-F(GG)-T
11. SB[°]C₆₀-F(Shirota)-T
12. SB[°]C₆₀-F(LB-H)-T
13. 0
14. KTI
15. 0

A 21. ábrán jól látható, hogy a kiindulási és a hőkezelt sárgaborsó mintákban több sávban is megfigyelhető tripszin-inhibitor típusú fehérje. A fermentált mintáknál már kevesebb tripszin-inhibitoraként megfestett sávot detektáltam. Valószínűsíthető, hogy a fermentáció során ezek a fehérjék elvesztették tripszin-inhibitor-aktivitásukat, vagy lebomlottak. A

Lactobacillus casei Shirota és *Lactobacillus plantarum* 2142 törzsek esetében csökkent a leginkább a festett sávok mennyisége. A tárolás során már nem jelentek meg tripszin-inhibitor-típusú fehérjék.



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

22. ábra: A fermentáció és a tárolás hatásának vizsgálata

natív PAGE-val a lencse fehérjéire (A) és annak tripszin-inhibitor fehérjéire (B)

vonatkozóan negatív festéssel végzett natív PAGE-val

1. 0
2. L
3. L[°]C₆₀
4. 0
5. L[°]C₆₀-F(2142)
6. L[°]C₆₀-F(GG)
7. L[°]C₆₀-F(Shirota)
8. L[°]C₆₀-F(LB-H)
9. L[°]C₆₀-F(2142)-T
10. L[°]C₆₀-F(GG)-T
11. L[°]C₆₀-F(Shirota)-T
12. L[°]C₆₀-F(LB-H)-T
13. 0
14. KTI
15. 0

A 22. ábra alapján a lencséről is elmondható, hogy a kiindulási és a hőkezelt mintákban is megfigyelhető tripszin-inhibitor típusú fehérje, a fermentáció során ezek minőségi

csökkenése volt tapasztalható. A TI-típusú fehérjék a sárgaborsóval ellentétben a tárolás után is jelen vannak. A *Lactobacillus rhamnosus* GG törzs hatására csökkent a legkevésbé a festett sávok mennyisége, a többi baktériumtörzs hasonló mértékben bontotta le a lencsében található tripszin-inhibitor fehérjéket.

MAGÓCSI EMESE - SZAKDOLGOZAT

6. Összefoglalás

Az alternatív táplálkozási irányzatok és az egészséges életmód iránti igény egyre szélesebb körben való elterjedésével fokozatosan nagyobb figyelmet kap a funkcionális élelmiszerek fejlesztése. Ezen élelmiszercsoport fontos képviselői a tejsavasan fermentált, probiotikus termékek.

A hüvelyesek fehérjéi könnyen komplettálhatók, magas beltartalmi értékeik és epidemiológiai vizsgálatokkal igazolt pozitív egészségügyi hatásai miatt előszeretettel alkalmazzák őket növényi alapú étrendekben. Emellett azonban megtalálhatóak bennük olyan antinutritív komponensek is, amelyek negatív irányba befolyásolják a fehérjék emészthetőségét, így a szervezet nem tudja hasznosítani az értékes tápanyagokat.

Szakdolgozatomban lencse (*Lens culinaris* Medik) és sárgaborsó (*Pisum sativum* L.) tejsavas fermentációját végeztem *Lactobacillus plantarum* 2142, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus casei* Shirota és *Lactobacillus plantarum* LB-Harvest baktériumtörzsek alkalmazásával az emészthetőség javítása és a különböző antinutritív vegyületek jelenlétének csökkentésének érdekében.

A 120 órás fermentációs folyamat és az azt követő 4 hetes tárolási kísérlet során a minták kémhatásának, oldott szárazanyagtartalmának, titrálható savtartalmának és az élő tejsavbaktériumok koncentrációjának változását monitoroztam. A mérés végeztével a mintákat liofilizáltam és gélelektroforézissel megvizsgáltam, hogy milyen hatással volt a Kunitz-féle tripszin-inhibitor jelenlétére a tejsavas erjesztés.

Eredményeim alapján megállapítható, hogy mind a négy tesztmikroorganizmusként alkalmazott *Lactobacillus* törzs alkalmas lencse és sárgaborsó tejsavas fermentálására szobahőmérsékleten. A fermentált minták kémhatása a tárolási kísérlet végén is megfelelően savas ($\text{pH} < 4,5$) maradt, így kijelenthető, hogy mikrobiológiai szempontból biztonságosak, továbbá a *Lactobacillus plantarum* 2142 és LB-Harvest, *Lactobacillus rhamnosus* GG törzsekkel beoltott sárgaborsó, valamint a *Lactobacillus plantarum* 2142, *Lactobacillus rhamnosus* GG törzsekkel beoltott lencse minták esetében az élősejtszám a 4 hetes tárolást követően is meghaladta a Magyar Élelmiszerkönyv által probiotikus termékekre előírt 10^6 TKE/ml koncentrációt.

Felhasznált irodalom

- Alonso, R., Orúe, E., Marzo, F., 1998. Effects of extrusion and conventional processing methods on protein and antinutritional factor contents in pea seeds. *Food Chemistry* 63, 505–512. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00037-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00037-5)
- Alrosan, M., Tan, T.-C., Mat Easa, A., Gammoh, S., Alu'datt, M.H., 2022. Recent updates on lentil and quinoa protein-based dairy protein alternatives: Nutrition, technologies, and challenges. *Food Chemistry* 383, 132386. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132386>
- Anderson, J.W., Major, A.W., 2002. Pulses and lipaemia, short- and long-term effect: Potential in the prevention of cardiovascular disease. *Br J Nutr* 88, 263–271. <https://doi.org/10.1079/BJN2002716>
- Bonny, S.P.F., Gardner, G.E., Pethick, D.W., Allen, P., Legrand, I., Wierzbicki, J., Farmer, L.J., Polkinghorne, R.J., Hocquette, J.-F., 2017. Untrained consumer assessment of the eating quality of European beef: 2. Demographic factors have only minor effects on consumer scores and willingness to pay. *Animal* 11, 1399–1411. <https://doi.org/10.1017/S1751731117000076>
- Bouckaert, J., Hamelryck, T., Wyns, L., Loris, R., 1999. Novel structures of plant lectins and their complexes with carbohydrates. *Current Opinion in Structural Biology* 9, 572–577. [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(99\)00007-X](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(99)00007-X)
- Chen, K., Gao, C., Han, X., Li, D., Wang, H., Lu, F., 2021. Co-fermentation of lentils using lactic acid bacteria and *Bacillus subtilis* natto increases functional and antioxidant components. *Journal of Food Science* 86, 475–483. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15349>
- Clark, B., Stewart, G.B., Panzone, L.A., Kyriazakis, I., Frewer, L.J., 2017. Citizens, consumers and farm animal welfare: A meta-analysis of willingness-to-pay studies. *Food Policy* 68, 112–127. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2017.01.006>
- Couto, A., Kortner, T. m., Penn, M., Østby, G., Bakke, A. m., Kroghdahl, Å., Oliva-Teles, A., 2015. Saponins and phytosterols in diets for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles: effects on growth, intestinal morphology and physiology. *Aquaculture Nutrition* 21, 180–193. <https://doi.org/10.1111/anu.12146>
- Csapó J., Albert C., Csapóné Kiss Z., 2016. Funkcionális élelmiszerek. Scientia Kiadó.
- Csapó J., Babinszky L., Csapóné Kiss Z., Győri Z., Simonné Sarkadi L., Schmidt J., 2006. Élelmiszer- és takarmányfehérjék minősítése. Mezőgazda Kiadó.
- de Vries, M.C., Vaughan, E.E., Kleerebezem, M., de Vos, W.M., 2006. *Lactobacillus plantarum*—survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract. *International Dairy Journal*, 4th NIZO Dairy Conference - Prospects for Health, Well-being and Safety 16, 1018–1028. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.09.003>
- Deák T., Kiskó G., Maráz A., Mohácsiné Farkas C., 2006. Élelmiszer-mikrobiológia. Mezőgazda Kiadó.
- Farkas J., Földházi P., Harkay T., Korány K., 2004. Élelmiszeralitika. Budapesti Közgazdaságtudományi és Államigazgatási Egyetem, Élelmiszertudományi Kar.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization, 2002. Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food.
- Frias, J., Miranda, M., Doblado, R., Vidalvalverde, C., 2005. Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *L. var.*

- Multolupa. Food Chemistry 92, 211–220.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.049>
- Ganesan, K., Xu, B., 2017. A Critical Review on Polyphenols and Health Benefits of Black Soybeans. *Nutrients* 9, 455. <https://doi.org/10.3390/nu9050455>
- Han, H., Baik, B.-K., 2008. Antioxidant activity and phenolic content of lentils (*Lens culinaris*), chickpeas (*Cicer arietinum* L.), peas (*Pisum sativum* L.) and soybeans (*Glycine max*), and their quantitative changes during processing. *International Journal of Food Science & Technology* 43, 1971–1978.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01800.x>
- Hartmann, R., Meisel, H., 2007. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Current Opinion in Biotechnology, Plant biotechnology / Food biotechnology* 18, 163–169.
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2007.01.013>
- Holzapfel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., Schillinger, U., 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition* 73, 365s–373s.
<https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.365s>
- Jarpa-Parra, M., Bamdad, F., Wang, Y., Tian, Z., Temelli, F., Han, J., Chen, L., 2014. Optimization of lentil protein extraction and the influence of process pH on protein structure and functionality. *LWT - Food Science and Technology* 57, 461–469.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.035>
- Johnson, C.R., Thavarajah, D., Combs, G.F., Thavarajah, P., 2013. Lentil (*Lens culinaris* L.): A prebiotic-rich whole food legume. *Food Research International* 51, 107–113.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.11.025>
- Kumar, Y., Basu, S., Goswami, D., Devi, M., Shivhare, U.S., Vishwakarma, R.K., 2022. Anti-nutritional compounds in pulses: Implications and alleviation methods. *Legume Science* 4. <https://doi.org/10.1002/leg3.111>
- Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature* 227, 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- Lászay G., Fodor M., 1999. *Élelmiszer-analitika I.*
- Lin, D., Lu, W., Kelly, A.L., Zhang, L., Zheng, B., Miao, S., 2017. Interactions of vegetable proteins with other polymers: Structure-function relationships and applications in the food industry. *Trends in Food Science & Technology* 68, 130–144.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.006>
- Magyar Élelmiszerkönyv, 2008. *Codex Alimentarius Hungaricus* 19.
- Michaels, T.E., 2004. PULSES, OVERVIEW, in: *Encyclopedia of Grain Science*. Elsevier, pp. 494–501. <https://doi.org/10.1016/B0-12-765490-9/00134-8>
- Miles, A.A., Misra, S.S., Irwin, J.O., 1938. The estimation of the bactericidal power of the blood. *Epidemiol. Infect.* 38, 732–749.
<https://doi.org/10.1017/S002217240001158X>
- Muzquiz, M., Varela, A., Burbano, C., Cuadrado, C., Guillamón, E., Pedrosa, M.M., 2012. Bioactive compounds in legumes: pronutritive and antinutritive actions. Implications for nutrition and health. *Phytochem Rev* 11, 227–244.
<https://doi.org/10.1007/s11101-012-9233-9>
- Petruláková, M., Valík, L., 2015. Evaluation of legumes as a substrate for probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Acta Alimentaria* 44, 268–275.
<https://doi.org/10.1556/066.2015.44.0004>
- Roberfroid, M., 2007. Prebiotics: The Concept Revisited. *The Journal of Nutrition* 137, 830S–837S. <https://doi.org/10.1093/jn/137.3.830S>

- Roy, F., Boye, J.I., Simpson, B.K., 2010. Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil. *Food Research International* 43, 432–442. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.002>
- Savelkoul, F.H.M.G., Van Der Poel, A.F.B., Tamminga, S., 1992. The presence and inactivation of trypsin inhibitors, tannins, lectins and amylase inhibitors in legume seeds during germination. A review. *Plant Food Hum Nutr* 42, 71–85. <https://doi.org/10.1007/BF02196074>
- Senok, A.C., Ismaeel, A.Y., Botta, G.A., 2005. Probiotics: facts and myths. *Clinical Microbiology and Infection* 11, 958–966. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01228.x>
- Singh, B., Singh, J.P., Singh, N., Kaur, A., 2017. Saponins in pulses and their health promoting activities: A review. *Food Chemistry* 233, 540–549. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.161>
- Stiles, M.E., Holzapfel, W.H., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology* 36, 1–29. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(96\)01233-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(96)01233-0)
- Thompson, L.U., Tenebaum, A.V., Hui, H., 1986. Effect of Lectins and the Mixing of Proteins on Rate of Protein Digestibility. *J Food Science* 51, 150–152. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1986.tb10857.x>
- Wang, N., Hatcher, D.W., Toews, R., Gawalko, E.J., 2009. Influence of cooking and dehulling on nutritional composition of several varieties of lentils (*Lens culinaris*). *LWT - Food Science and Technology* 42, 842–848. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.10.007>
- Zhang, B., Peng, H., Deng, Z., Tsao, R., 2018. Phytochemicals of lentil (*Lens culinaris*) and their antioxidant and anti-inflammatory effects. *Journal of Food Bioactives* 1, 93–103. <https://doi.org/10.31665/JFB.2018.1128>

Táblázat- és ábrajegyzék

1. táblázat: Lencse, csicsoriborsó, borsó és szójabab fehérje-, lipid-, keményítő- és hamutartalma (Han and Baik, 2008); utolsó hozzáférés dátuma: 2022. 07.08.
2. táblázat: Lencse és sárgaborsó hozzávetőleges összetétele 100 gramm hüvelyesre vonatkoztatva (Kumar et al., 2022); utolsó hozzáférés dátuma: 2022. 07. 14.
3. táblázat: Aminosavak csoportosítása az ember táplálkozási igényeinek megfelelően (Csapó et al., 2006)
4. táblázat: A lencsefehérjék átlagos esszenciális aminosavtartalmának [g/100g] összehasonlítása a FAO/WHO egészséges felnőttek számára ajánlott bevitelével (Alrosan et al., 2022); utolsó hozzáférés dátuma: 2022. 07.30.
5. táblázat: A tejsavbaktériumok rendszerezésének áttekintése a családok és nemzetségek szintjén (Deák et al., 2006)
6. táblázat: Tejsavbaktérium nemzetségekre vonatkozó alaki és élettani tulajdonságok (Deák et al., 2006)
7. táblázat: Probiotikus mikroorganizmusok (Holzapfel et al., 2001); utolsó hozzáférés dátuma: 2022. 02. 22.
8. táblázat: A vizsgált tejsavbaktérium törzsek
9. táblázat: A vizsgált sárgaborsó minták
10. táblázat: A vizsgált lencse minták
11. táblázat: Sárgaborsó és lencse minták beoltás utáni átlagos induló kémhatása, oldott szárazanyagtartalma, titrálható savtartalma és sejtkoncentrációja

1. ábra: A fermentáció élelmiszerkomponensekre és funkcionális tulajdonságokra gyakorolt hatásának vázlatos ábrázolása (Alrosan et al., 2022); utolsó hozzáférés dátuma: 2022. 07. 30.
2. ábra: *Lactobacillus rhamnosus* GG baktériummal beoltott lencse minta, 72 órás mintavétel kiértékelése
3. ábra: Sárgaborsó minták kémhatásának változása a fermentáció során
4. ábra: Lencse minták kémhatásának változása a fermentáció során
5. ábra: Sárgaborsó minták oldott szárazanyagtartalmának változása a fermentáció során
6. ábra: Lencse minták oldott szárazanyagtartalmának változása a fermentáció során
7. ábra: Sárgaborsó minták titrálható savtartalmának változása a fermentáció során
8. ábra: Lencse minták titrálható savtartalmának változása a fermentáció során
9. ábra: Sárgaborsó minták sejtkoncentrációjának vizsgálata a fermentáció során
10. ábra: Lencse minták sejtkoncentrációjának vizsgálata a fermentáció során
11. ábra: Sárgaborsó minták kémhatásának változása a tárolási kísérlet alatt
12. ábra: Lencse minták kémhatásának változása a tárolási kísérlet alatt
13. ábra: Sárgaborsó minták oldott szárazanyagtartalmának változása a tárolási kísérlet alatt
14. ábra: Lencse minták oldott szárazanyagtartalmának változása a tárolási kísérlet alatt
15. ábra: Sárgaborsó minták titrálható savtartalmának változása a tárolási kísérlet alatt
16. ábra: Lencse minták titrálható savtartalmának változása a tárolási kísérlet alatt
17. ábra: Sárgaborsó minták sejtkoncentrációjának vizsgálata a tárolási kísérlet alatt
18. ábra: Lencse minták sejtkoncentrációjának vizsgálata a tárolási kísérlet alatt
19. ábra: A fermentáció és a tárolás hatásának nyomonkövetése a sárgaborsó fehérjéire vonatkozóan SDS-PAGE-val
20. ábra: A fermentáció és a tárolás hatásának nyomonkövetése a lencse fehérjéire vonatkozóan SDS-PAGE-val

21. ábra: A fermentáció és a tárolás hatásának vizsgálata natív PAGE-val a sárgaborsó fehérjéire (A) és annak tripszin-inhibitor fehérjéire (B) vonatkozóan negatív festéssel végzett natív PAGE-val

22. ábra: A fermentáció és a tárolás hatásának vizsgálata natív PAGE-val a lencse fehérjéire (A) és annak tripszin-inhibitor fehérjéire (B) vonatkozóan negatív festéssel végzett natív PAGE-val

MAGÓCSI EMESE - SZAKDOLGOZAT

Köszönetnyilvánítás

Ezúton is szeretném megköszönni konzulensemnek, Dr. Hegyi Ferencnek, hogy a szakdolgozatom készítése során végig ösztönzött és támogatott.

Köszönöm Dr. Takács Krisztinának és Háderné Sólyom Katalinnak a gélelektroforézis elsajátításában és az ehhez kapcsolódó kísérletek elvégzésében nyújtott szakmai segítséget.

Köszönet illeti a Táplálkozástudományi Tanszék Élelmiszertudományi Kutatócsoportjának valamennyi munkatársát munkám elkészítésében nyújtott segítségükért.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm a családomnak, hogy mindig biztosították nekem a megfelelő háttérrel, támogattak és jó tanácsokkal láttak el a dolgozat megírása során.

NYILATKOZAT

a szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Magócsi Emese
A Hallgató Neptun kódja: DTU025
A dolgozat címe: Lencse (*Lens culinaris* Medik) és sárgaborsó (*Pisum sativum* L.) fermentációjának vizsgálata
A megjelenés éve: 2022
A konzulens tanszék neve: Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék

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

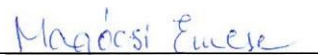
Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a Záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

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

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

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe.

Kelt: Budapest, 2022. október 28.


Hallgató aláírása

KONZULTÁCIÓS NYILATKOZAT

Magócsi Emese (hallgató Neptun azonosítója: DTU025) 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, 2022. október 28.



Dr. Hegyi Ferenc
Belső konzulens