

SZAKDOLGOZAT

Nagy Levente Szakdolgozat

NAGY LEVENTE

2022

Magyar Agrár és Élettudományi Egyetem

Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet

Élelmiszer-mikrobiológiai, -biztonsági és -higiéniai Tanszék

Tejsavbaktériumok szervessav
termelése különböző összetettségű
szénhidrátforrások mellett

Nagy Levente

Budapest

2022

**Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet**

**Szak neve: BSc Élelmiszermérnöki
Tartósítóipari technológiák és minőségügy**

Szakedolgozat készítés helye: Élelmiszer-mikrobiológiai, -biztonsági és -higiéniai Tanszék

Hallgató: Nagy Levente

A szakedolgozat címe: Tejsavbaktériumok szervessav termelése különböző összetettségű szénhidrátforrások mellett

Konzulens: Mohácsiné Dr. Farkas Csilla
Külső konzulens esetén tanszéki felelős:

Beadás dátuma: 2022.04.26.



szakedolgozat készítés helyének vezetője
(név)



konzulens
(név)

Stégerné dr. Máté Mónika
Tartósítóipari technológiák és minőségügy

Tartalom

1	Bevezetés	1
2	Célkitűzés	2
2.1	Tejsavbaktériumtörzsek szaporodási jellemzőinek meghatározása.....	2
2.2	Tejsavtermelés mértékének meghatározása.....	2
2.3	Fermentáció során termelt szerves savak azonosítása és mennyiségi meghatározása.....	2
3	Irodalmi áttekintés	3
3.1	Tejsavbaktériumok fellelhetősége	3
3.2	Tejsavbaktériumok felhasználása az élelmiszeriparban	4
3.3	Tejsavbaktériumok szénhidráthasznosítása	6
3.3.1	Monoszacharidok lebontása a tejsavbaktériumokban – glükóz, galaktóz.....	6
3.3.2	Diszacharidok – laktóz, maltóz	7
3.4	Alternatív anyagcserefolyamatok	8
3.5	Tejsavbaktériumok szervessavtermelése	10
4	Anyagok és módszerek.....	11
4.1	Felhasznált anyagok.....	11
4.1.1	Alkalmazott tejsavbaktérium törzsek	11
4.1.2	Tápleves elkészítése, összetétele.....	11
4.2	Sejttenyésztés.....	12
4.3	Szaporodási jellemzők meghatározása	13
4.4	pH mérése	13
4.5	D-tejsav mérése.....	14
4.6	HPLC analízis	14
5	Mérési eredmények.....	15
5.1	Tejsavbaktériumok szaporodási jellemzői.....	15
5.2	Fermentáció során végbement pH-csökkenés.....	20
5.3	Fermentáció során keletkezett szerves savak meghatározása.....	21
6	Összefoglalás	33
7	Irodalomjegyzék	35
8	Köszönetnyilvánítás	38

1 Bevezetés

Az embereket már évezredek óta foglalkoztatja a megtermelt élelmiszerek eltarthatóságának növelése. Az egyik leghosszabb múltra visszatekintő tartósítási eljárás a savanyítás, ami a nyersanyag eltarthatósága mellett a termék érzékszervi tulajdonságait is befolyásolja, így az élelmiszerek új csoportját alkotva. A fermentált termékek számos nemzet gasztronómiájában megjelenik, fogyasztásuk a nemzeti konyhák szerves részét képezi.

A tartósítási eljárások fejlődése lehetővé tette, hogy az élelmiszerek hosszabb ideig eltarthatóak egyre kisebb fizikai és kémiai elváltozások mellett, ennek ellenére a fermentált termékekre továbbra is van igény. Az érzékszervi jellemzői mellett az élettani hatásai miatt is kedvelt élelmiszerek a fermentált termékek.

A fizikai és kémiai tartósítási eljárások emberi egészségre gyakorolt hatásaival szembeni aggályok mellett a funkcionális élelmiszerek térnyerése is a biológiai tartósítások felé terelik a fogyasztók figyelmét. A fermentáláshoz leggyakrabban alkalmazott baktériumok kedvező hatással vannak az emésztésre, részt vesznek az egészséges mikroflóra kialakításában, a termékben található anyagcseretermékek pedig kedvező élettani hatással lehetnek.

A fermentálási eljárásokat kezdetekben tapasztalati úton, megfigyelések alapján fejlesztették, a mikrobiológia tudományának fejlődése új perspektívába helyezte. A spontán erjesztés jelentőségét átvette az irányított erjesztés, ezzel növelve a fermentált termékek biztonságát, érzékszervi jellemzőit és a fermentáció hatékonyságát. A megnövekedett mennyiségek és a költséghatékonyság növelése érdekében fontos szerepet kapott a gyártás során felhasznált anyagok és technológiák optimalizálása, ehhez elengedhetetlen a fermentációhoz használt baktériumok metabolizmusának vizsgálata, megértése.

2 Célkitűzés

Szakdolgozatom céljaul tűztem ki, hogy megvizsgáljam a tejsavbaktériumok néhány gyakori szénhidrátra történő reakcióját; az anyagcserefolyamataik végtermékeit megnevezni és számszerűsíteni.

2.1 Tejsavbaktériumtörzsek szaporodási jellemzőinek meghatározása

A szakdolgozatom során a különböző szénhidrátforrások hatására bekövetkező változásokat vizsgáltam a baktériumtörzsek szaporodásában. Céloom az volt, hogy a tejsavbaktériumtörzseket rangsoroljam a szaporodásuk alapján, majd előzetes következtetést levonni a szénhidráthasznosításukra vonatkozóan.

2.2 Tejsavtermelés mértékének meghatározása

A mérések során célnak tűztem ki, hogy különböző tejsavbaktériumok D-tejsav termelésének mennyiségét meghatározzam, összehasonlítsam egymással, és a szaporodási jellemzők alapján tett előzetes megállapítással.

2.3 Fermentáció során termelt szerves savak azonosítása és mennyiségi meghatározása

Méréseim célja, hogy a vizsgált törzsek metabolizmusának eredményeként kialakult szervessav-profilját jellemezzem minőségi és mennyiségi adatokkal, a mintákat összehasonlítsam egymással.

3 Irodalmi áttekintés

3.1 Tejsavbaktériumok fellelhetősége

A tejsavbaktériumok a természetben széles körben és nagy változatossággal találhatóak meg, rendszeresen fedeznek fel újabb fajokat a nemzetségen belül (Pot, Tsakalidou, 2009). A talajban számos olyan baktérium mutatható ki, amelyek biokémiai és genetikai jellemzőik alapján a *Lactobacillus* nemzetséghez soroltak be (Se-Kwon et. al. 2012).

A talajban található tejsavbaktériumok részt vesznek a szerves anyagok lebontásában, így fontos szerepet játszanak a komposztálás folyamatában is. T. Higa és S. Kinjo (1989) kísérletükben egy komplex, de főként *Lactobacillus* törzseket tartalmazó talajjavító oldatot adagoltak szerves anyaggal kevert talajmintákhoz. A talajjavító adagolása jelentősen növelte a talaj humusztartalmát, és javította a talajmintákon termesztett növények fejlődését is.

A magok csírázási képességét a tejsavbaktériumok által termelt végtermékek pozitívan befolyásolják. A hajtás és a gyökérzet kialakulását nagy mértékben gyorsítja, akár 30%-kal nagyobb méretű fő- és mellégyökérzet alakulhat ki a *Lactobacillus plantarum* törzsszel párosított paradicsommagok növekedése során (Limanska et. al, 2013)

Az emberi emésztőszervrendszerben számos baktérium mellett az egészséges mikroflóra része a legfőképpen vastagbélben élő *Lactobacillus* törzsek. Ezek a baktériumok csökkentik a pH-t, védekeznek a betegségeket okozó egyéb baktériumok ellen és enzimekkel segítik az emésztést, probiotikumként élnek az emberi szervezetben. A *Bifidobacterium* mellett a *Lactobacillus* nemzetség tagjai teszik ki a probiotikumok jelentős hányadát (Fuller, 1992).

A probiotikumok olyan élő mikroorganizmusok, melyek megfelelő mennyiségű étellel történő bevitele egészségügyi előnyökhöz juttatja a gazdatestet. Az állati takarmányokban használt probiotikus törzsek szintén egészségügyileg javíthatja az állatok állapotát (Internet 1.)

Ahogy az emberi emésztőszervrendszerben, úgy számos más állat szervezetében is található tejsavtermelő baktériumokat, melyek szintén probiotikus hatással bírnak. Pham és munkatársai (2003) azt az összefüggést találták, hogy a főként *Lactobacillus* törzseket tartalmazó probiotikum készítmény adagolásával a csirkék takarmányozásában 10,7%

súlygyarapodást eredményezett a probiotikummal nem módosított takarmányozású egyedek súlynövekedésével szemben. Az egészséges mikroflóra jelentősen gyorsabb növekedést segít elő, ami az állattenyésztés számára kiemelten fontos jelentőséggel bíró baktériummá teszi a *Lactobacillus* nemzetség tagjait.

A *Lactobacillus* nemzetségben többnyire Gram + baktériumok vannak, de az utóbbi évtizedekben jelentek meg olyan kutatási eredmények, melyek Gram- tejsavbaktériumokat írnak le. Az anyagcserefolyamataik változatosak, kataláz és peroxidáz negatívak, aerotoleránsak, anaerob fermentáció során tejsavat termelnek. Nem rendelkeznek teljes citromsav körrel, elsődlegesen homo- és heterofermentatív módon bontanak le szénhidrátokat (Hyaekang et al, 2020).

3.2 Tejsavbaktériumok felhasználása az élelmiszeriparban

Tejsavbaktériumokkal történő erjesztés egy régóta használt tartósítási és élelmiszerkészítési eljárás. Számos, hazánkban is népszerű élelmiszer előállításában fontos résztvevő baktérium, megjelennek a sajtok és egyéb savanyított tejtermékek, kovász, fermentált zöldségek és bizonyos hústermékek gyártásában.

A tejsavbaktériumok a gyors pH csökkentés mellett potenciálisan termelnek antimikrobás hatású anyagokat, melyek gátolják a megbetegedéseket és romlást okozó baktériumokat, mint a *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Brochothrox thermosphacta*, *Enterococcus faecalis* vagy akár a *Clostridium sporogenes* szaporodását (Brink, et al., 1994). A tejsavbaktériumok antifungális hatása érinti a leggyakoribb gombás szennyeződések mikrobáit, mint az *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* és a *Cladosporium* nemzetségek tagjait, melyeket a tejsavbaktériumok hatékonyan gátolnak. A hatásmechanizmus egyrészt a tápanyagokért folytatott versengésen, másrészt az antagonista hatású metabolitok termelésén alapszik. A nagy mennyiségű tejsav termelése mellett rengeteg szerves savat termelnek, melyek a többi mikrobára gátló hatással van. A hangyasav és a fenil-tejsav a kisebb mennyiség ellenére nagyobb antifungális hatással bír, mint a tejsav (Russo et al, 2017).

A számos romlást okozó baktériumok mellett a tejsavbaktériumok féken tartása is szempont lehet. A kolbászokból izolált tejsavbaktériumok jól alkalmazkodtak a környezetükhöz, emiatt a többi tejsavbaktériumtörzsszel szemben gátló hatásúak, ugyanis a kompetitív hatásuk révén hátráltatja más tejsavtermelő baktériumok szaporodását (Ammor et al, 2006)

A jelenlegi élelmiszeripari trendek közül a funkcionális élelmiszerek mindenképpen fontos szerepet kapnak. Számos tejsavbaktérium bír probiotikus hatással, egyik leggyakoribb termék, mely a *Lactobacillusok* ezen jellemzőit használja fel a probiotikus joghurt, kefir, és a különböző sajtok, melyekhez starterkultúraként adják hozzá a probiotikus baktériumokat (Tamim et al., 2005).

A starterkultúrák olyan mikroorganizmusok, melyeket a nyersanyaghoz adagolnak, és az anyagcserefolyamataik révén hozzájárulnak a kívánt végeredmény eléréséhez. A leggyakoribb starterkultúrák közé tartoznak a tejsavbaktériumok, amik a gyors pH csökkentés hatására segítik a tejtermékekben a tejfehérje koagulációját. A pH csökkentés mellett befolyásolják az ízt, az állományt a proteinek, zsírok és egyéb alkotóelemek lebontásával. A *Lactobacillus* törzseket tartalmazó starterkultúrák használata a sajtérést gyorsítja, csökkenti az oxidációs folyamatokat (Kasimoglu et al, 2004). A különböző starterkultúrák a probiotikus és gyártástechnológiai szempontok mellett az aromakomponensek termelésével is részt vesznek a termék végső tulajdonságainak kialakításában (Beshkova et al, 2003).

A fermentált tejtermékek összetételi és műveleti tényezői befolyásolják a tejsavbaktériumok illékony szerves vegyület termelését. Xilóz jelenlétében a *Lactobacillus pentosus* törzs nagy mennyiségű etanolt, 2,3-butándiont és ecetsavat termel, amik a szokásosnál eltérő savanyú és vajas ízt kölcsönöz a joghurtoknak (Pan et al, 2014).

A *Lactobacillus* nemzetségen belül található olyan fajok, melyeket előszeretettel alkalmaznak a fermentált hústermékek készítése során. A fermentált hústermékek eltarthatósága hosszabb a nem fermentált termékekhez viszonyítva, ebben szintén a különböző bakteriocinek és a pH csökkenése játszik nagy szerepet (Kumari et al., 2015).

A tejsavbaktériumokat a kovász elkészítéséhez is előszeretettel alkalmazzák, ugyanis nagy spektrumban képesek gátolni penészek szaporodását is. A különböző szerves savak egymással szinergiában vannak a különböző penészgombák gátlásában. Az ecetsav, kapronsav, hangyasav, vajsav és n-valeriánsav keveréke jelentős antifungális hatással bír, ezek közül a kapronsav bír a legnagyobb befolyással. A megfelelő tejsavbaktériumtörzs kiválasztása kiemelt jelentőségű, ugyanis ezeket a szerves savakat a különböző törzsek eltérő mennyiségben és arányban termelik (Corsetti et al, 1998)

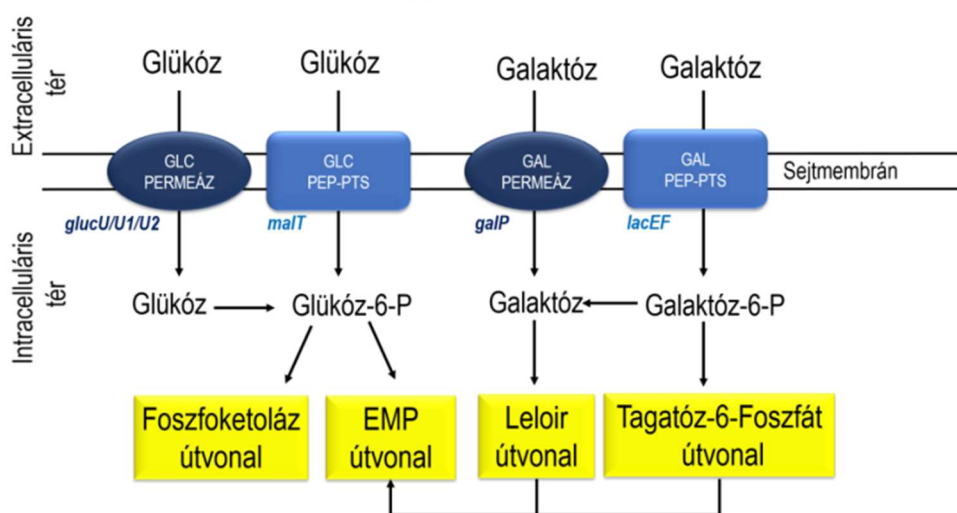
Bakteriocin termelés függ a körülményektől és a törzsek jellemzőitől is. A *L. acidophilus* az alacsonyabb szaporodás ellenére több bakteriocin anyagot termel MRS táplevesben, mint a *L. casei*, tejsavban viszont a tej eredetű tejsavbaktérium termel nagyobb mennyiségű

bakteriocin anyagot. Bizonyos tejsavbaktériumok nem is képesek tejben fejlődni, az emésztőrendszerben élő baktériumok egy része nem tud alkalmazkodni a tejben található nyersanyagokhoz. Annak ellenére, hogy nagyobb mennyiségben termelnek bakteriocin anyagokat a tejsavbaktériumok az MRS táplevesben, a tejben termelt bakteriocinek tartósabbak, ez arra enged következtetni, hogy a fermentáció során termelt anyagok valószínűleg fogyasztáskor is jelen lehetnek (Avonts et al, 2004).

3.3 Tejsavbaktériumok szénhidráthasznosítása

3.3.1 Monoszacharidok lebontása a tejsavbaktériumokban – glükóz, galaktóz

A tejsavbaktériumok élelmiszeripari felhasználásuk szempontjából a legfontosabbak a glükóz és galaktóz hasznosítása. A sejtmembránon keresztül mindkettő szénhidrát elsődlegesen PEP-PTS rendszeren, illetve permeázok segítségével jut át (1. ábra). A két rendszer jelentősége fajonként eltérő lehet, de a homofermentatív törzsek túlnyomó hányada a PEP/PTS rendszert, míg a heterofermentatív fajok jellemzően a permeáz rendszert alkalmazzák. A permeázokon keresztül a sejtbe jutott szénhidrátok eredeti formában maradnak, ezzel szemben a PEP-PTS rendszer forszorizálja a szénhidrátokat transzport során (Zhao & Gänzle, 2018).



1. ábra: Glükóz és galaktóz felvétele és lebontása a tejsavbaktériumokban. Kék színű, dőlt betűkkel az adott transzportrendszert kódoló gén, sárga keretben az egyes anyagcsereútvonalak neve szerepel (Pázmándi, 2020).

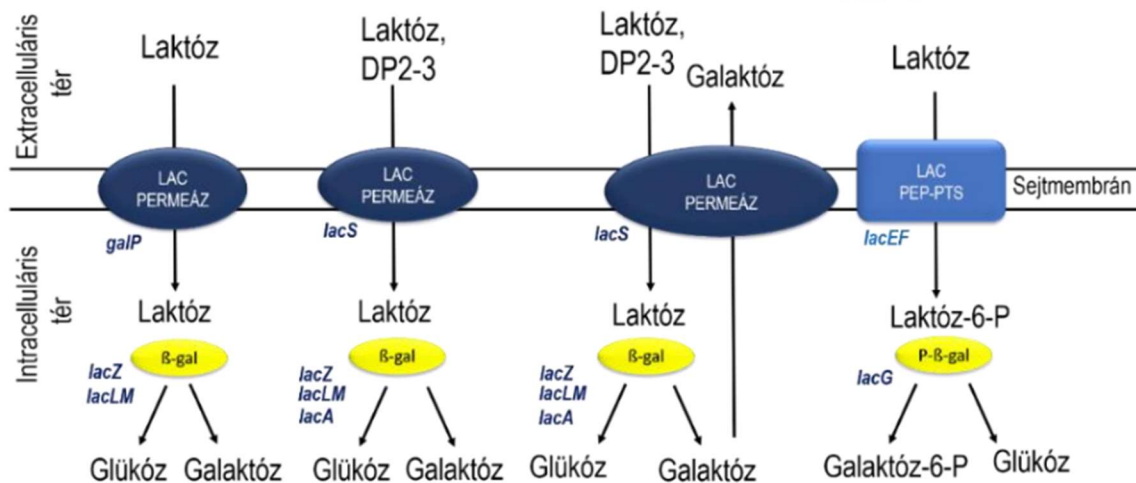
Homofermentatív erjedés során a glükózt a tejsavbaktériumok glikolízis (EMP útvonal) útján bontják, heterofermentatív lebontás a foszfoketoláz útvonalon történik (1. ábra). A

foszfoketoláz útvonal energiakihozatal szempontjából nem kedvező, ennek javítására az acetil-foszfátot alternatív elektron-akceptor segítségével ecetsavvá alakítják a tejsavbaktériumok (Gänzle, 2015).

A galaktóz metabolizmusa a Leloir illetve a tagatóz-6-foszfát útvonalon történhet (1. ábra). Mindkettő anyagcsere-folyamat során a galaktózt glükóz-6-foszfáttá és trióz-foszfátokká alakítja, majd ezek a glikolízisben kerülnek lebontásra (Iskandar et al, 2019).

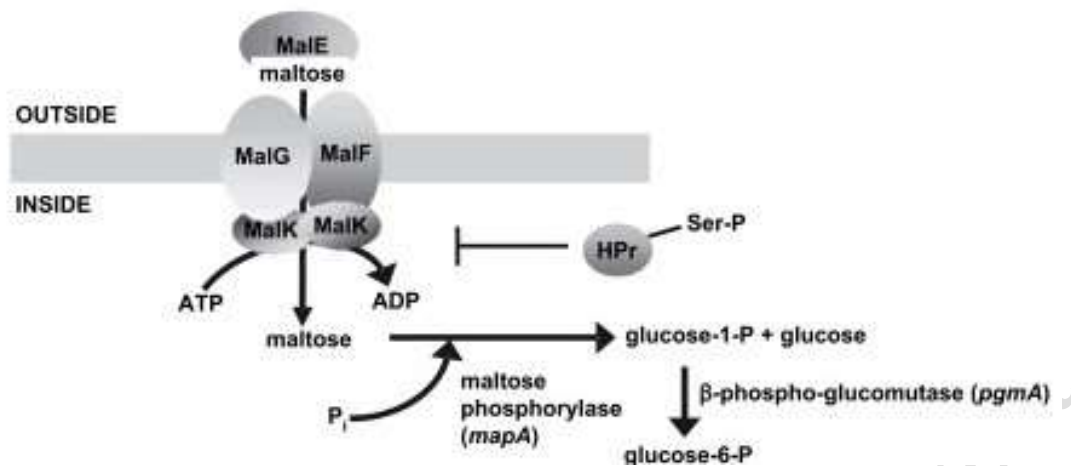
3.3.2 Diszacharidok – laktóz, maltóz

A laktóz szintén a PEP-PTS illetve a permeáz rendszeren keresztül juthat be a sejtbe, majd a β -galaktozidáz enzim felbontja glükózra és galaktózra, melyek a 3.3.1. részben ismertetett módon kerülnek lebontásra (2. ábra) (Iskandar et al, 2019).



2. ábra: Laktóz és DP2-DP3 GOS felvétel, és lebontás tejsavbaktériumokban. Kék színű, dőlt betűkkel az adott transzportrendszer vagy enzimet kódoló gén neve szerepel (Pázmándi, 2020)

A tejsavbaktériumok a maltózt ABC transzporterekkel szállítják az intracelluláris térbe, majd maltóz-foszforiláz enzim hasítja, és képez belőle glükóz-1-foszfátot és glükózt, majd a β -foszfo-glükomutáz enzim alakítja glükóz-6-foszfáttá, ami pedig már részt tud venni a glikolízisben (3. ábra) (Monedero et al, 2008).

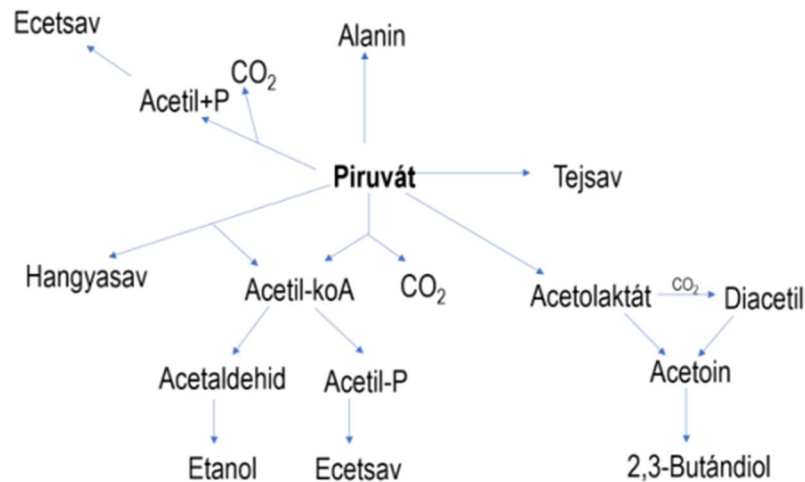


3. ábra: maltóz felvétel és lebontás a *Lactobacillus casei* BL23 törzsben. A maltóz-operonban (MalEGFK₂) kódolt ABC transzporter juttatja a maltózt az intracelluláris térbe. Az induktor kizárás modell alapján a P-Ser-HPr gátolja az ABC transzporter működését, ezáltal blokkolva a maltóz transzportot. (Monedero et al, 2008).

3.4 Alternatív anyagcserefolyamatok

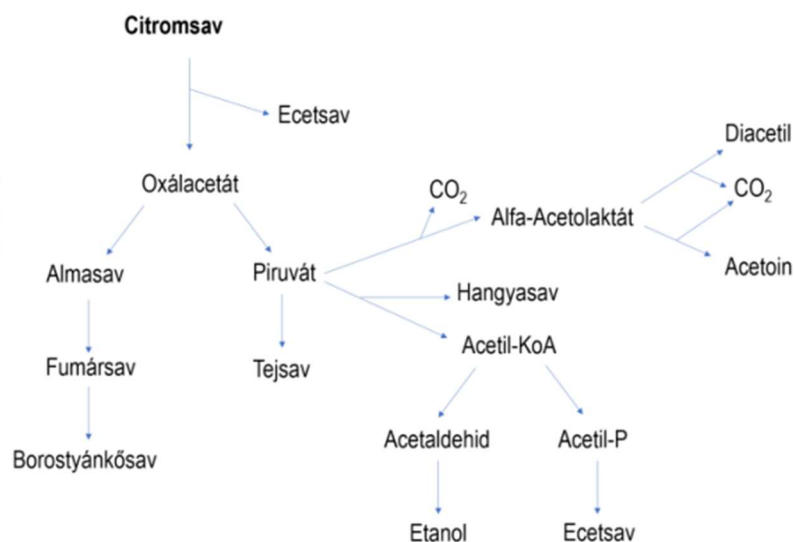
Bár a tejsavbaktériumokat jellemzően aerotoleráns anaerob baktériumokként jellemezzük, bizonyos kutatások rámutatnak, hogy képesek aerob metabolizmusra. A légzéshez szükség van hemre, bizonyos törzsek számára pedig manequinon jelenlétére. A légzés segíti a kofaktorok újraképződését, illetve a homofermentatív metabolizmust eltolja az ecetsav és az acetoinképzés irányába (4. ábra). Aerob fermentáció lehetővé teszi alternatív kofaktorok keletkezését, viszont ebben az esetben is a tejsav marad a fő végtermék (Gänzle, 2015).

Korlátozott glükóz mellett a homo- és heterofermentatív törzsek is képesek alternatív útvonalakon lebontani a piruvátot, abból ecetsavat, hangyasavat, acetoint, és 2,3-butándiolt szintetizálni (Gänzle, 2015).



4. ábra: Tejsavbaktériumok alternatív metabolikus útvonalain piruvátból potenciálisan keletkező anyagcseretermékek (Pázmándi, 2020)

A tejsavbaktériumok ugyan nem rendelkeznek teljes citromsavkörrel, citromsavat képesek termelni. Számos *Lactobacillus* törzs esetében jelen van a citrát-szintetáz enzim, mellyel képesek citromsav termelésére, de több másik, Szentgyörgyi-Krebs-ciklusban megjelenő enzim hiányzik a tejsavbaktériumokból (Morishita & Yajima, 1994). A citromsavat a tejsavbaktériumok képesek tovább bontani számos más szerves savvá, illetve etanollá és acetoinná. A citrát lebontása segít a pH homeosztázisban és a kofaktorok regenerálásában (5. ábra) (Gänzle, 2015).



5. ábra: tejsavbaktériumok citromsav-hasznosítása során potenciálisan keletkező anyagcseretermékek (Pázmándi, 2020).

3.5 Tejsavbaktériumok szervessavtermelése

Bár a legtöbb esetben a homofermentatív erjesztés a jellemző anyagcserefolyam a tejsavbaktériumok esetében, számos szerves savat kis mértékben termelnek a tejsavbaktériumok. Ecetsavat nem csak a citrát metabolizmushoz kötve szintetizálnak, hanem egyéb lebontási folyamatok is jelen vannak, melyek piruvátból eredményeznek ecetsav végterméket (Torino et al., 2001). A tejsavbaktérium fajtól és a tápleves minőségétől függően termelhetnek tejsav mellett ecet-, hangya-, citrom-, borostyánkő-, glutamin- és vajsavat (Zalán et al., 2009).

A tejsavbaktériumok szerves savakat is képesek átalakítani más savakká: több törzs esetében tapasztalható, hogy a citrom-, alma- és fumársavból képes borostyánkősavat termelni. A folyamathoz diammónium-citrát prekuzorra van szükség, ami a tejsavbaktériumok vizsgálata során gyakori MRS táplevesben megtalálható (Kaneuchi et al., 1988).

Bizonyos tejsavbaktériumok képesek anoxikus körülmények között a tejsavat ecetsavvá és 1,2-propándiollá alakítani külső elektron akceptor nélkül. A lebontási útvonal végeredményeként 1 mol tejsavból 0,5 mol ecetsav, 0,5 mol 1,2-propándiol és kis mértékű etil-alkohol keletkezik. Ez a fajta anyagcsere-folyamat savas közegben jön létre és nem teszi lehetővé a sejtgyarapodást (Elferink et al., 2001).

A tejsavbaktériumok szervessav termelése antagonistá hatással bír számos romlást okozó penészgombával szemben. Az ecet-, hangya-, hexán-, propion-, vaj- és valeriánsav egymás hatását erősítve gátolja a *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* és *Monilia* penészek szaporodását (Corsetti et al., 1998).

4 Anyagok és módszerek

4.1 Felhasznált anyagok

4.1.1 Alkalmazott tejsavbaktérium törzsek

A szakdolgozat készítéséhez három tejsavbaktérium törzset vizsgáltam (1. táblázat). Az alkalmazott baktériumtörzsek különböző sejtgyűjteményekből származnak. A törzsek -80 °C-on, 20%-os glicerin oldatban voltak tárolva a mérések megkezdése előtt.

1. táblázat. Az alkalmazott tejsavbaktériumtörzsek listája, származása és a szakdolgozatban alkalmazott rövidítésük

Tejsavbaktérium törzs	Forrás	Rövidítés
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>ssp. bulgaricus</i> B397	Institute of Dairy Microbiology, Agricultural Faculty, University of Perugia	L.d. B397
<i>Lactobacillus plantarum</i> 2108	Institute of Dairy Microbiology, Agricultural Faculty, University of Perugia	L.pl. 2108
<i>Lactobacillus sakei</i> DSM 20017	DSMZ (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures)	L.s. DSM

4.1.2 Tápleves elkészítése, összetétele

A vizsgált törzseket módosított MRS táplevesben tenyésztettem. Az MRS tápleves összetételén a szénhidrát minőségét változtattam, a koncentrációján nem (2. táblázat). A mérésekhez glükóz, galaktóz, laktóz és maltóz szénhidrátforrással készítettem négy táplevest.

2. táblázat: az MRS tápleves összetétele

Pepton	25,75 g/l
Szénhidrát	20 g/l
Na-acetát	3 g/l
Diammónium citrát	1 g/l
Mg-szulfát	0,2 g/l
Mn-szulfát	0,05 g/l

A tápleves elkészítéséhez a peptonból, a sókból és a szénhidrátforrásokból először tiszta oldatot készítettünk (3. táblázat), ezt követően az oldatok keverésével és hígításával készítettük el a tápleveseket.

3. táblázat: tápleves elkészítéséhez használt oldatok összetétele

Peptonvíz	51,5 g/l pepton
Szénhidrát	100 g/l szénhidrát
Sóoldat	15 g/l Na-acetát 5 g/l Diammónium citrát 1 g/l Mg-szulfát 0,25 g/l Mn-szulfát

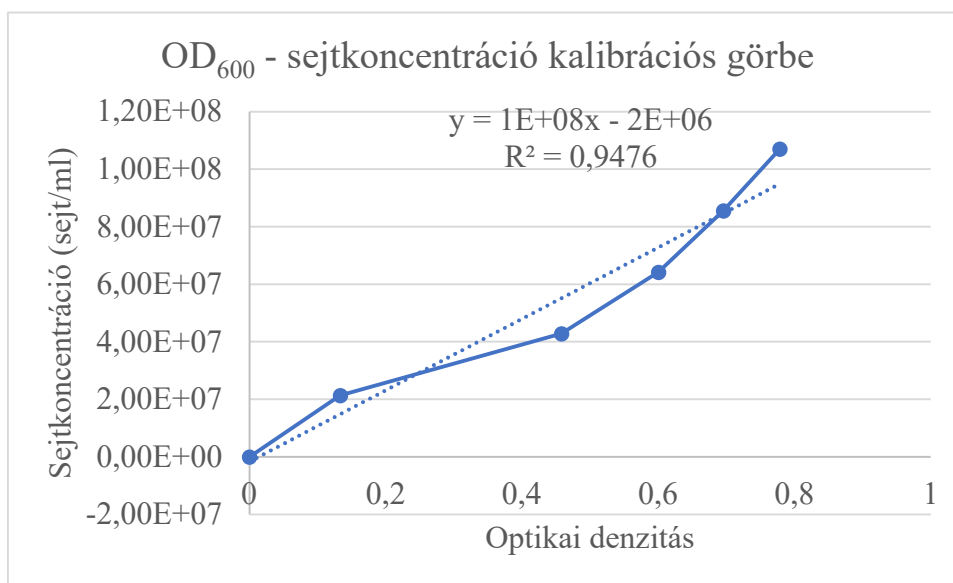
A mérésekhez különböző szénhidrátokkal 150-150 ml táplevest készítettünk, amelyekbe 75 ml peptonvizet, 30 ml szénhidrát oldatot, 30 ml sóoldatot kevertünk össze, majd 15 ml desztillált vizet adtunk hozzá.

4.2 Sejttenyésztés

A kísérleteket megelőzően a törzseket MRS táplevesben 30 °C-on 2.5 L Oxoid AnaeroJars (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, US) anaerob jarban inkubáltam, abból a célból, hogy a mérési sorozathoz egy friss sejttenyészet álljon rendelkezésemre.

A kísérletek során a tenyésztés 30 °C-on 2.5 L Oxoid AnaeroJars (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, US) anaerob üvegben történt. Az anaerob körülményeket gyertyalánggal teremtettük elő.

A kezdetben használt tenyészeteket tízszeresére hígítottuk, hogy az optikai denzitása várhatóan 0-0,2 érték közé essen. A törzsoldatokat úgy készítettük el, hogy a törzsoldat sejtkoncentrációja 10^7 sejt/cm³ koncentrációjú legyen. Ehhez az 6. ábrán látható kalibrációs görbét alkalmaztuk. A törzsoldatból ötszörös hígítással készítettük a mintákat.



6. ábra: *Lactobacillus* törzsek sejtkoncentrációjának meghatározásához alkalmazott sejtkoncentráció-OD₆₀₀ kalibráció

4.3 Szaporodási jellemzők meghatározása

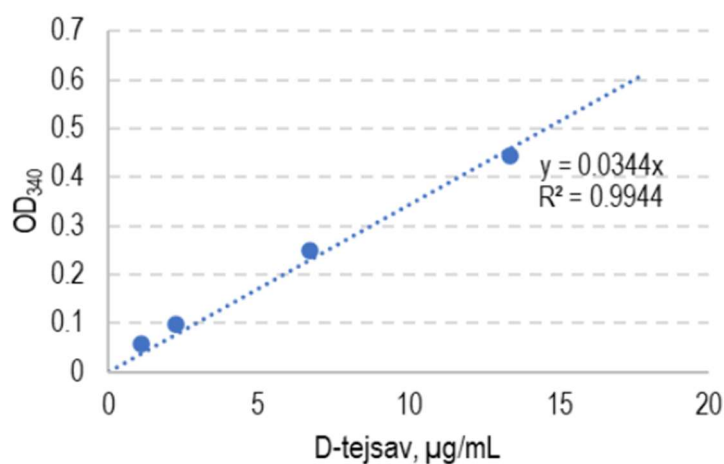
A tenyésztés fázisait nyomonkövettem a törzsek sejtkoncentrációján keresztül. A szaporodásvizsgálathoz a tenyészetek optikai denzitását mértem 600 nm-en, melyhez Specord 200 Plus (analytik Jena AG, Jena, Germany) spektrofotométert alkalmaztam. A törzsek sejtkoncentrációjának meghatározásához Pázmándi (2020) Bürker kamrával mért sejtkoncentráció – OD600 kalibrációját alkalmaztam. A törzsek kalibrációs görbéje a 6. ábrán látható.

4.4 pH mérése

A szaporodás során tapasztalható fermentációs folyamat alatti pH változásának mérését OrionStar A111 típusú ROSS pH/ATC elektróddal kiegészített pH mérővel (Thermo Fischer Scientific Inc., Waltham, MA, US) végeztem.

4.5 D-tejsav mérése

A baktériumtörzsek által a tenyésztés alatt termelt D-tejsavat a Megazyme (Bray, Írország) enzimes D-lactic Acid Kit-jével mértem. Az enzimes reakció végtermékeinek kvantifikálása spektrofotometriásan történt, a mérést 340 nm-en, MultiScan Ascent (agilent Technologies Inc, Santa Clara, CA, US) spektrofotométerrel végeztem. A kapott eredményeket Pázmándi (2020) ugyanezen enzimes kit D-laktát sztenderdjével készített kalibrációja alapján számított ki (7. ábra).



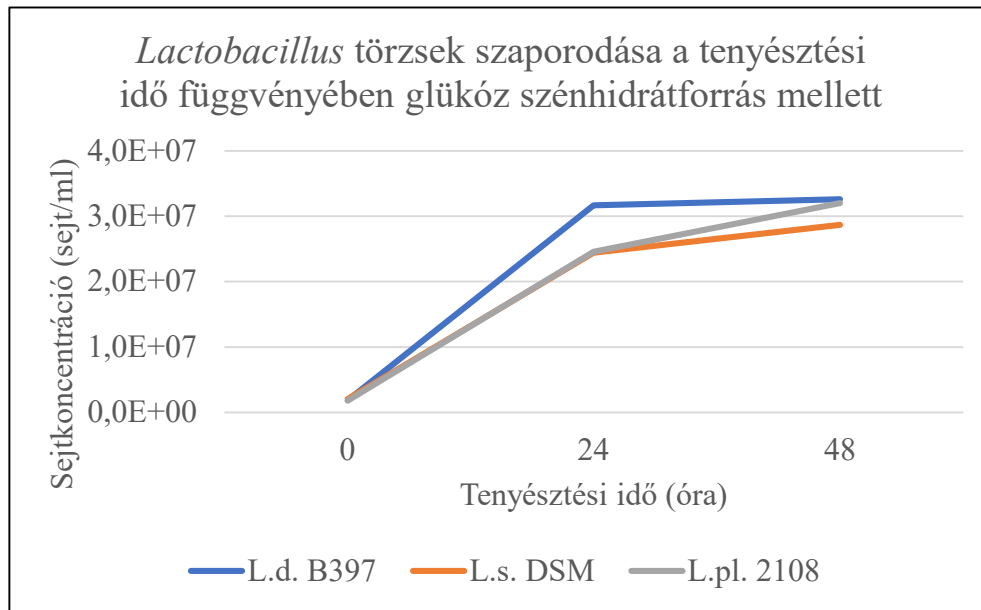
7. ábra: Tejsavbaktérium törzsek D-laktát termelésének vizsgálata során alkalmazott D-laktát-OD₃₄₀ kalibráció (Pázmándi, 2020)

4.6 HPLC analízis

A HPLC rendszer, amit a mérésekhez alkalmaztam, egy SCM1000 gáztalanító egységből, egy P200 gradiens pumpából és egy AS100 fűtött automata mintavevőből (Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA) és egy R-101 refrakciós index detektorból (Showa Denko Europe GmbH (Munich, Germany) állt össze. A mérési adatok rögzítése és a csúcs alatti területek integrációja az N2000 Chromatography Data System és N2000 Photographic Data Workstation programokkal (Science Technology, Inc., Hangzhou, Kína) történt. A méréshez egy védőoszloppal párosított Rezex ROA Organic Acid 8% H⁺ 300x7,8 mm oszlopot (Phenomenex, Torrance, CA) használtam. A mérést 60 °C-on végeztem, 0,4 ml/min áramlási sebességgel 0,005 N kénsav mobil fázissal. A szerves savak azonosítását és kvantifikálását egy előre elkészített kalibráció segítségével végeztem (Pázmándi, 2020).

5 Mérési eredmények

5.1 Tejsavbaktériumok szaporodási jellemzői

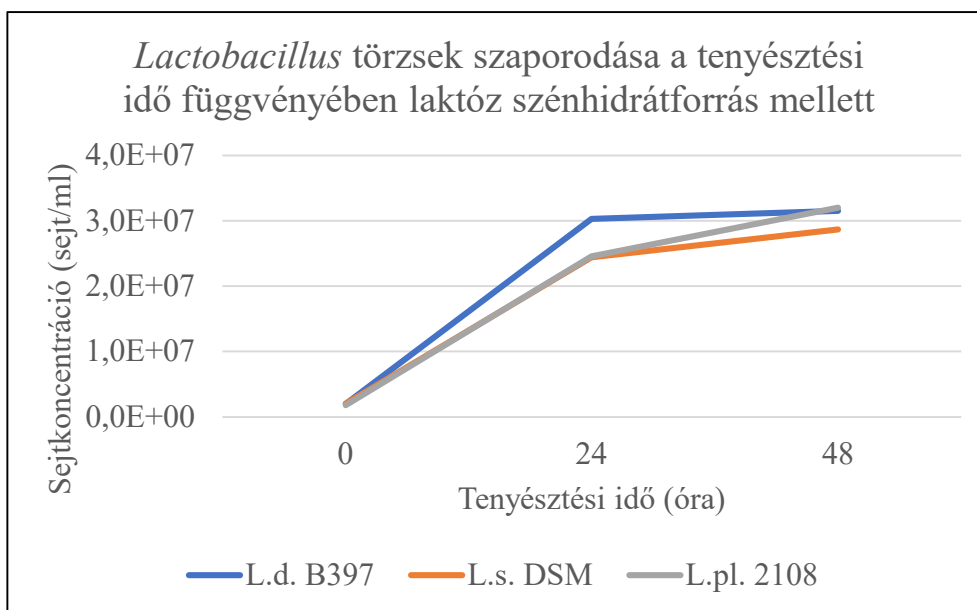


8. ábra: *Lactobacillus* törzsek szaporodása a tenyésztési idő függvényében glükóz szénhidrátforrás mellett

A vizsgált *Lactobacillus* törzsek glükóz szénhidrátforrással készített táplevesben mérhető sejtszámgyarapodását a 8. ábra mutatja.

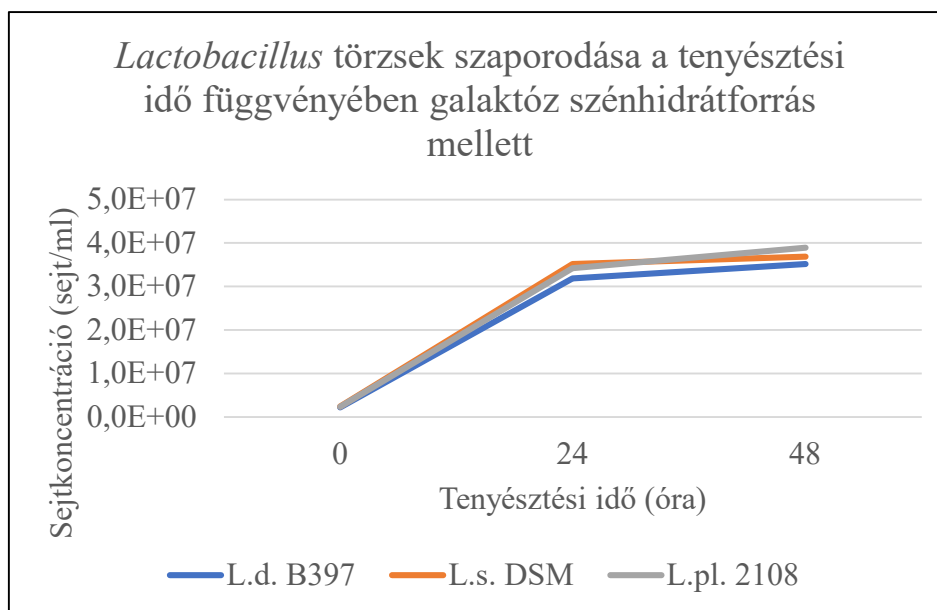
A vizsgált *Lactobacillus* törzsek az inkubálás első 24 órájában szaporodtak leggyorsabban glükóz szénhidrátforrás mellett. 24 órát követően a szaporodásuk jelentősen lelassult.

A leggyorsabb növekedést és a legmagasabb sejtkoncentrációt a L.d. B397 törzs érte el, viszont a második 24 órában a sejtszám nem növekedett nagy mértékben. Bár a másik két törzs sejtszámgyarapodása lassabb volt, L.pl. 2108 és L.s. DSM törzsek a második 24 órában is növelték a sejtkoncentrációjukat, kettejük közül is az L.pl. 2108 törzs érte el a magasabb sejtkoncentrációt.



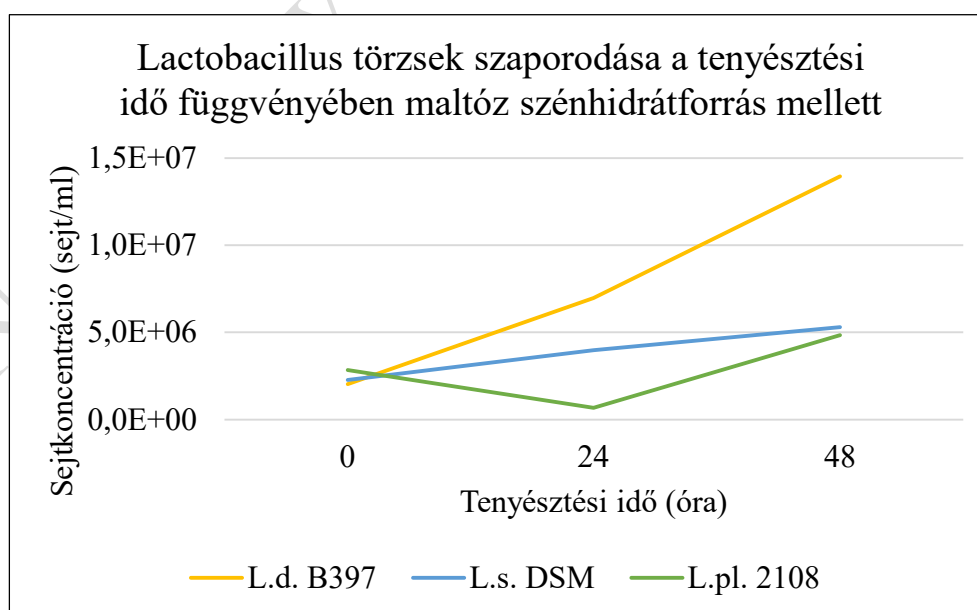
9. ábra: *Lactobacillus* törzsek szaporodása a tenyésztési idő függvényében laktóz szénhidrátforrás mellett

A vizsgált *Lactobacillus* törzsek glükóz szénhidrátforrással készített táplevesben mérhető sejtszámgyarapodását a 9. ábra mutatja. A három vizsgált törzs közül a L.d. B397 szaporodott az első 24 órában a leggyorsabban, viszont nem ez a törzs érte el 48 óra alatt a legmagasabb sejtkoncentrációt. Laktóz szénhidrátforrás mellett a glükózhoz hasonlóan a L.d. B397 törzs gyarapodott leggyorsabban az első 24 órában, majd a sejtkoncentráció növekedése jelentősen lelassult. A két másik törzs közül szintén a L.pl. 2108 törzs ért el magasabb sejtkoncentrációt, a 48 órás mintában magasabb értéket ért el, mint a L.d. B397 törzs.



10. ábra: *Lactobacillus* törzsek szaporodása a tenyésztési idő függvényében galaktóz szénhidrátforrás mellett

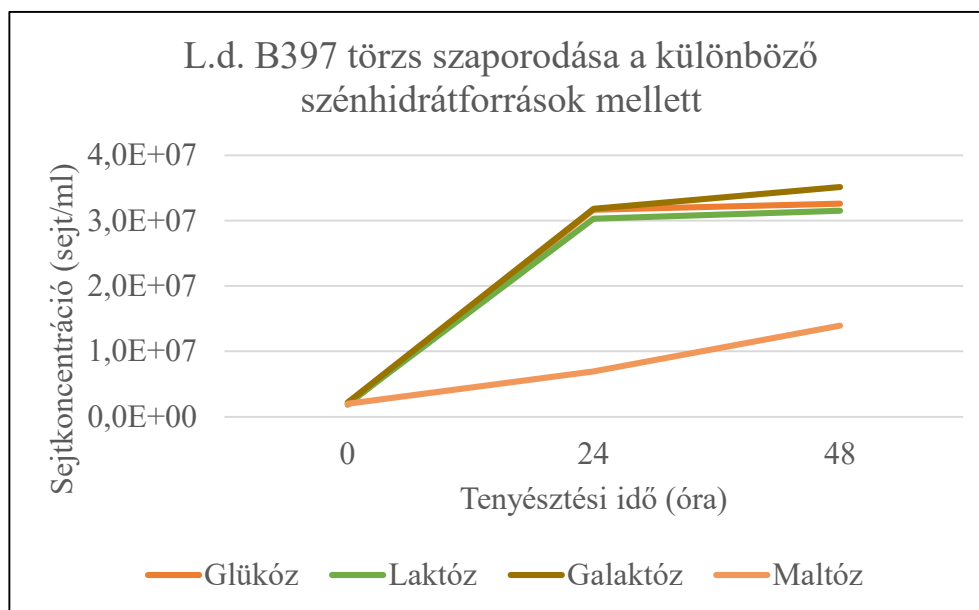
A vizsgált *Lactobacillus* törzsek glükóz szénhidrátforrással készített táplevesben mérhető sejtszámgyarapodását a 10. ábra mutatja. Galaktóz szénhidrátforrás mellett a L.d. B397 törzs sejtkoncentrációja volt a legalacsonyabb, de így is magasabb értéken volt, mint a glükózzal és laktózzal készült mintákban. Az első 24 órában a L.s. DSM törzs érte el a legmagasabb sejtszámot, a 48 órás minták közül viszont a L.pl. 2108 mintáiban mértük a legmagasabb sejtkoncentrációt.



11. ábra: *Lactobacillus* törzsek szaporodása a tenyésztési idő függvényében maltóz szénhidrátforrás mellett

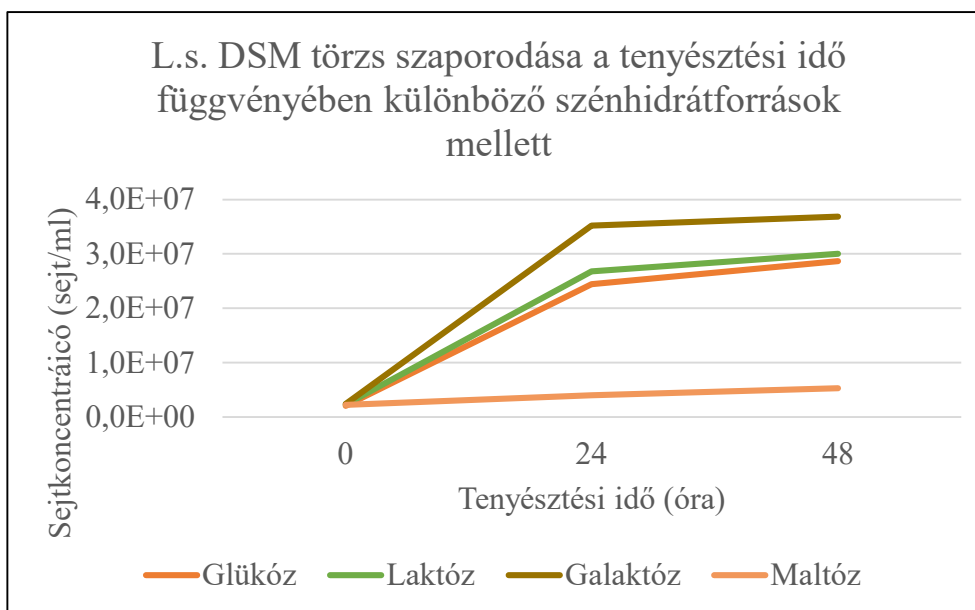
A vizsgált *Lactobacillus* törzsek glükóz szénhidrátforrással készített táplevesben mérhető sejtszámgyarapodását a 11. ábra mutatja.

A maltóz szénhidrátforrás mellett a vizsgált *Lactobacillus* törzsek változatos sebességgel szaporodtak. Az eredmények alapján arra következtethetünk, hogy a L.d. B397 törzs tudja legjobban hasznosítani a maltózt a két másik, L.s. DSM és L.pl. 2108 törzssel szemben, de még így is alig több, mint harmadát érte el a sejtkoncentráció a galaktózzal készített mintákhoz viszonyítva.



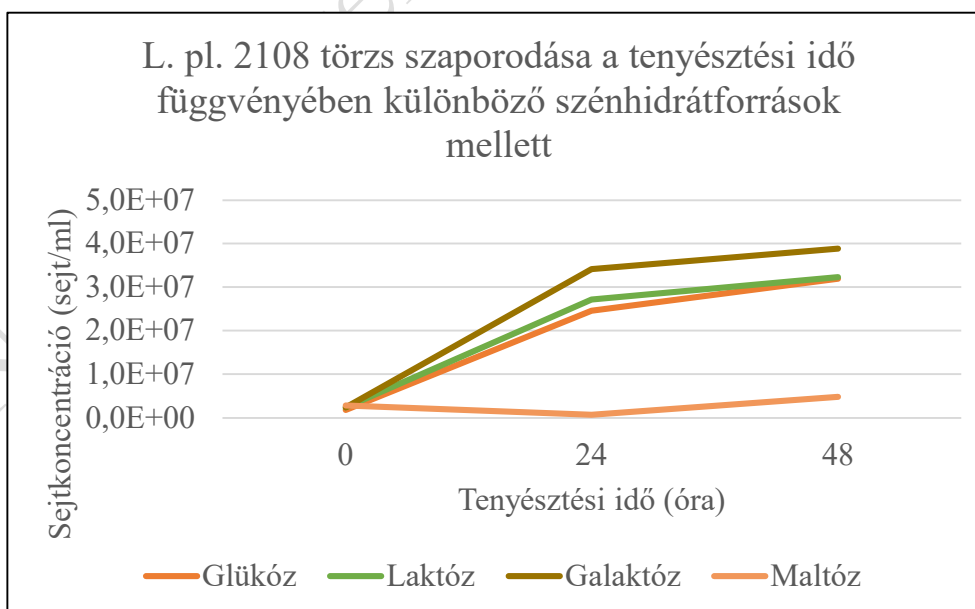
12. ábra: L.d. B397 törzs szaporodása a különböző szénhidrátforrások mellett

Az 12. ábra alapján a L.d. B397 sejtenyészet a maltózon kívül minden szénhidrátforráson megközelítőleg ugyanolyan sebességgel szaporodott, viszont a galaktóz szénhidrátforráson érte el a legmagasabb sejtkoncentrációt. Az eredmények alapján arra következtethetünk, hogy a L.d. B397 törzs a glükózt, laktózt és galaktózt ugyanolyan hatékonysággal képes lebontani.



13. ábra: L.s. DSM törzs szaporodása a különböző szénhidrátforrások mellett

13. ábra alapján L.s. DSM sejtenyészet a glükóz, laktóz szénhidrátforrás mellett hasonló sebességgel szaporodott, és a maximális sejtkoncentráció is megegyezett. A legnagyobb sebességgel galaktóz szénhidrátforráson szaporodott a L.s. DSM törzs és a legmagasabb maximális sejtkoncentráció is ezen a szénhidrátforráson volt mérhető. A maltózt kis mértékben tudja hasznosítani, szaporodási sebessége jelentősen kisebb a maltózzal készített táplevesben, mint a kisebb összetettségű szénhidrátokkal készült táplevesekben.



14. ábra: L.pl. 2108 törzs szaporodása különböző szénhidrátforrások mellett

A 14 ábra alapján L.pl. 2018 törzs a L.s. DSM törzs szaporodásával hasonló dinamikával szaporodott 24 órán belül, viszont a következő 24 órában a L.pl. 2108 sejttenyészet szaporodási sebessége meghaladta a L.s. DSM törzs tenyészeténél tapasztalható szaporodási sebességet. A 48 óráig inkubált mintákban a L.pl. 2108 törzs sejtkoncentrációja glükóz, laktóz és galaktóz szénhidrátforrás mellett magasabb értékeket ért el a L.d. B397 törzsetől, galaktózzal készült mintákban a L.d. B397 törzs sejtkoncentrációját is meghaladta. A maltóz szénhidrátforrás mellett a sejttenyészet szaporodási sebessége nehezen meghatározható, az értékek a várt eredményektől eltérőek.

5.2 Fermentáció során végbement pH-csökkenés

4. táblázat: a glükózzal, galaktózzal, laktózzal és maltózzal készített táplevesekben mért pH értékek a tenyésztési idő hatására

		24h	48h
L.s. DSM	Glükóz	3,86±0,21	3,75±0,09
	Galaktóz	3,91±0,03	3,65±0,01
	Laktóz	4,43±0,46	3,86±0,09
	Maltóz	5,47±0,28	5,37±0,32
L.d. B397	Glükóz	3,84±0,02	3,63±0,00
	Galaktóz	3,85±0,00	3,68±0,00
	Laktóz	3,89±0,01	3,67±0,02
	Maltóz	5,1±0,04	4,96±0,05
L.pl. 2108	Glükóz	3,61±0,28	3,77±0,08
	Galaktóz	3,81±0,01	3,63±0,00
	Laktóz	3,98±0,14	3,70±0,02
	Maltóz	5,54±0,26	5,39±0,35

Az MRS leves pH-ja 6,04. A sejttenyésztés hatására több minta esetében pH=4 alá csökkent a kémhatás, a tejsavbaktériumok által termelt szerves savak hatására. A 48 órás minták pH értéke alacsonyabb volt a 24 órás minták pH értékeinél, ez arra enged következtetni, hogy a tenyésztés során végig rendelkezésre állt szénhidrát, ami elősegítette a fermentációs folyamatokat; ez alól a L.pl. 2108 glükóz mintája kivétel (4. táblázat).

5.3 Fermentáció során keletkezett szerves savak meghatározása

5. táblázat: a vizsgált törzsek D-tejsav termelése a különböző szénhidrátok hatására 24 és 48 órás tenyésztési időt követően

		D-tejsav, g/L	
		24h	48h
L.s. DSM	Glükóz	0,330±0,046	0,620±0,078
	Galaktóz	0,284±0,057	0,010±0,008
	Laktóz	0,228±0,073	0,208±0,014
	Maltóz	0,055±0,0125	0,039±0,027
L.d. B397	Glükóz	0,316±0,054	0,350±0,025
	Galaktóz	0,248±0,017	0,356±0,030
	Laktóz	0,292±0,044	0,373±0,018
	Maltóz	0,246±0,048	0,303±0,018
L.pl. 2108	Glükóz	0,391±0,080	0,403±0,089
	Galaktóz	0,006±0,004	0,371±0,035
	Laktóz	0,248±0,042	0,349±0,022
	Maltóz	0,054±0,005	0,083±0,003

Az 5. táblázatban feltüntetett értékek alapján látható, hogy az esetek többségében a szaporodási jellemzőkkel együtt, a glükóz, a laktóz és a galaktóz szénhidrátforrások mellett termeltek több D-tejsavat a tejsavbaktérium törzsek. Több esetben glükóz szénhidrátforrás hatására termeltek a vizsgált törzsek magasabb mennyiségben D-laktátot. A maltóz szénhidrátforrás mellett a L.d. B397 törzs mutatott legnagyobb mértékű szaporodást és D-tejsav termelést is. A mérések jelentős részében a 24 órás tenyészetekhez képest több D-tejsavat tudunk kimutatni a 48 órás tenyészetekben.

Mivel az inkubálás után a felhasznált szénhidrátokból maradék volt jelen az oldatban, így az is megjelent a kromatogramon, ez befolyásolta bizonyos szerves savak detektálását.

A laktóz és a maltóz retenciós ideje közel esik az oxálsav, citromsav és borkősav retenciós idejéhez, és az oldatban jelenlévő koncentráció nagyságrendekkel magasabb, az említett szerves savak koncentrációjához képest, emiatt a kromatogramon nem határozható meg pontosan az utóbbi szerves savak mennyisége.

A galaktóz retenciós ideje az almasav retenciós idejéhez közeli értéken van, emiatt a galaktózzal készített minták almasav tartalma szintén nem határozható meg pontosan. A hangyasav, bár a jelenléte minden mintában felfedezhető, mennyisége a legtöbb esetben nem volt biztonsággal megállapítható, mivel a tejsav nagyságrendekkel magasabb koncentrációban volt jelen, és a retenciós ideje is közel esik a hangyasavéhoz.

6. táblázat: a vizsgált tejsavbaktérium törzsek tejsavtermelése 24 és 48 óra fermentációt követően

		Tejsav (g/l)	
		24 h	48 h
L.s. DSM	glükóz	12,426±2,2838	15,344±1,5355
	galaktóz	13,542±0,3565	16,632±0,4264
	laktóz	7,6650±3,5151	13,474±2,1429
	maltóz	1,2362±0,1825	1,6119±0,4004
L.d. B397	glükóz	14,754±0,1057	16,672±0,3399
	galaktóz	13,068±1,0955	15,367±0,5350
	laktóz	13,057±0,1943	15,780±0,2267
	maltóz	1,4743±0,0858	2,0176±0,0039
L.pl. 2108	glükóz	11,054±2,6751	15,604±1,6019
	galaktóz	14,173±0,3554	16,770±0,2671
	laktóz	12,022±1,6143	14,832±0,5602
	maltóz	1,3226±0,1782	1,4774±0,4036

A vizsgált törzsek különböző szénhidrátforrások mellett mérhető tejsavtermelését a 6. táblázat foglalja össze.

A L.d. B397 törzs tejsavtermelése glükózzal készült mintákban volt a legmagasabb, az első 24 óra tenyésztést követően a tejsavtermelés lelassult. A glükóz táplevesben a 24 óráig termosztált mintákban a L.pl. 2108 és a L.s. DSM törzs jelentősen kevesebb tejsavat termelt, viszont a 48 óráig tenyésztett mintákban a különbség jelentősen csökkent. Ahogy a szaporodási görbékünkön is látható, a L.d. B397 a 24 óra tenyésztés során közel jutott a környezeti feltételek által elérhető legmagasabb sejtszámhoz, a tejsavas fermentáció is jelentősen lelassult. A 48 órás mintákban 13%-kal magasabb tejsavkoncentrációt mértünk a 24 órás mintákhoz képest. A két másik törzs, a L.s. DSM és L.pl 2108 szaporodási sebessége kisebb mértékben csökkent glükóz táplevesben, mint a L.d. B397 törzs szaporodási sebessége, a tejsavkoncentrációban is nagyobb mértékű növekedést mértünk, mint a L.d. B397 törzs esetében: a L.pl. 2108 törzs 41,16%, a L.s. DSM törzs pedig 23,48% tejsavkoncentráció növekedést ért el a hosszabb tenyésztési idő hatására. A nagyobb mértékű tejsavkoncentráció-növekedés ellenére a L.d. B397 törzs érte el a legmagasabb tejsavkoncentrációt a 48 óráig tenyésztett minták között, ahogy a sejtkoncentrációja is ennek a törzsnek volt a legmagasabb.

Laktóz szénhidrátforrás mellett a 24 órás mintákban a L.pl. 2108 törzs több tejsavat termelt, mint a L.d. B397 törzs laktózzal készített mintájában mértünk, annak ellenére, hogy a minták sejtkoncentrációja alapján a L.d. B397 törzs gyorsabban szaporodott. A L.s. DSM törzs laktózzal készült 24 órás mintájában jelentősen alacsonyabb tejsavtartalmat

mértünk, annak ellenére, hogy a szaporodásában nem tapasztalható nagy különbség a L.pl. 2108 törzsével szemben. A 48 órás mintákban a vártnak megfelelően a L.s. DSM törzs mintáiban alacsonyabb tejsavkoncentrációt mértünk, mint a másik kettő törzs mintáiban. A három törzs mindegyike termelt tejsavat laktóz szénhidrátforrás mellett a második 24 óra termosztálási idő alatt.

A legalacsonyabb összes tejsavtartalom. várható módon minden törzs esetében a maltóz szénhidrátforrás mellett volt mérhető. A törzsek közül a L.s. DSM termelte a legmagasabb mennyiségű tejsavat maltóz mellett a 48 óráig tenyésztett mintákban, viszont a 24 óráig inkubált mintákban a L.d. B397 mintáiban tapasztaltuk a legmagasabb tejsavkoncentrációt. A L.d. B397 jelentősen magasabb sejtkoncentrációt ért el a maltózzal készült táplevesben, a tejsavtermelése a 48 órás tenyésztést követően alacsonyabb volt, mint a másik kettő, vizsgált tejsavbaktérium esetében.

Galaktóz szénhidrátból a törzsek közül a L.d. B397 termelte a legkisebb mennyiségű tejsavat, a galaktóz táplevesben szintén ez a törzs érte le a legalacsonyabb sejtkoncentrációt. Ahogy a sejtkoncentrációban, úgy a tejsavkoncentrációban is a L.pl. 2108 törzs érte el a legmagasabb értéket. A L.d. B397 ugyan a többi törzshöz viszonyítva alacsonyabb sejtkoncentrációt ért el galaktóz szénhidrátforrás mellett, a 4 vizsgált szénhidrátból a szaporodási jellemzők alapján arra számítottunk, hogy a galaktózzal készült táplevesben várható a magasabb tejsavtartalom, ennek ellenére a glükóz szénhidrát mellett érte el a legmagasabbat.

Ugyan voltak a szaporodási jellemzőkkel szembemenő eredmények a tejsavkoncentráció mérésében, általánosan elmondható, hogy a szaporodás és a tejsavas fermentáció egymással közeli kapcsolatban áll 48 órás termosztálási időtartam alatt.

7. táblázat: a vizsgált tejsavbaktériumtörzsek oxálsav termelése 24 és 48 óra fermentációt követően (N.A.=Nincs Adat)

		Oxálsav (g/l)	
		24 h	48 h
L.s. DSM	glükóz	0,6424±0,0749	0,7405±0,0521
	galaktóz	0,7202±0,0143	0,6691±0,0168
	laktóz	N.A.	N.A.
	maltóz	N.A.	N.A.
L.d. B397	glükóz	0,7871±0,0939	0,7828±0,0066
	galaktóz	0,7543±0,0731	0,6646±0,0323
	laktóz	N.A.	N.A.
	maltóz	N.A.	N.A.
L.pl. 2108	glükóz	0,8131±0,1812	0,7739±0,0522
	galaktóz	0,7648±0,0253	0,7046±0,0188
	laktóz	N.A.	N.A.
	maltóz	N.A.	N.A.

A vizsgált törzsek különböző szénhidrátforrások mellett mérhető oxálsav termelését a 7. táblázat foglalja össze.

A glükózzal készült minták közül az oxálsav koncentrációja a L.s. DSM törzs mintájában növekedett a hosszabb termosztálási idő hatására. Glükózzal készült táplevesben a L.s. DSM törzs 24 és 48 órás mintája között azt tapasztaltuk, hogy az oxálsav mennyisége 15,27%-kal nőtt meg, ezzel szemben a L.pl. 2108 törzs esetében a méréseink szerint 4,82%-kal csökkent az oxálsav mennyisége a 24 és 48 órás inkubálás hatására. A L.d. B397 törzs esetében nem tapasztalható nagy mértékű változás a hosszabb tenyésztési időtartam függvényében.

A 2108 és L.d. B397 törzs glükózos 24 órás mintáiban magasabb oxálsav tartalmat mértünk, mint ugyanezen törzsek galaktóz 24 órás mintáiban, ez a 48 órás tenyésztés hatására sem változott. A L.s. DSM törzs kezdetben a galaktózzal készült mintákban mutatott nagyobb mértékű oxálsav termelést, de a 48 órás mintában a galaktóz mintákban tapasztalható csökkenés miatt alacsonyabb oxálsav koncentrációt mértünk, mint a glükóz 48 órás mintájában.

Galaktóz szénhidrátforrás mellett az oxálsav mennyisége mindhárom törzs esetében alacsonyabb volt a 48 órás mintákban, mint a 24 órásiakban. A legnagyobb csökkenés a L.d. B397 mintában volt mérhető, 11,89% csökkenéssel, de a L.pl. 2108 és a L.s. DSM mintákban is 7,86% illetve 5,47%-kal alacsonyabb oxálsav tartalmat mértünk a hosszabb ideig tenyésztett mintákban.

A glükózzal készített táplevesben mindhárom törzs magasabb mennyiségű oxálsavat termelt, ami a szaporodási jellemzőktől eltérő.

8. táblázat: a vizsgált tejsavbaktériumtörzsek citromsav termelése 24 és 48 óra fermentációt követően (N.A.=Nincs Adat)

		Citromsav (g/l)	
		24 h	48 h
L.s. DSM	glükóz	0,9217±0,0479	0,9045±0,0399
	galaktóz	0,5012±0,0146	0,4573±0,0098
	laktóz	N.A.	N.A.
	maltóz	N.A.	N.A.
L.d. B397	glükóz	0,9952±0,0140	0,9459±0,0328
	galaktóz	0,5285±0,0461	0,4925±0,0316
	laktóz	N.A.	N.A.
	maltóz	N.A.	N.A.
L.pl. 2108	glükóz	1,0242±0,0192	0,9380±0,0294
	galaktóz	0,4886±0,0122	0,4716±0,0018
	laktóz	N.A.	N.A.
	maltóz	N.A.	N.A.

A vizsgált törzsek különböző szénhidrátforrások mellett mérhető citromsav termelését a 8. táblázat foglalja össze.

A citromsav mennyisége mindhárom törzs esetében alacsonyabb volt a 48 órás mintában, mint a 24 órásban. A legnagyobb mértékű citromsavtartalom csökkenés a L.pl. 2108 törzs esetében volt mérhető, 8,42%-kal csökkent a citromsav mennyisége glükózt tartalmazó táplevesben a tenyésztési idő növelésével.

A citromsavkoncentráció csökkenésének mértéke a glükóz és galaktóz szénhidrát mellett fordított sorrendet állít fel a törzsek között: amelyik törzs citromsavtartalom-csökkenése a legmagasabb volt glükóz mintáiban, az a galaktóz mintákban alacsonyabb csökkenést mutatott. A L.s. DSM törzs mintáiban ugyan a glükóz esetében alacsony volt a citromsavtartalom csökkenése, galaktóz szénhidrátforrás mellett 7,38%-kal alacsonyabb citromsavtartalmat mértünk a hosszabb tenyésztési idő hatására. Galaktózzal készített táplevesben a L.d. B397 törzs mintáiban 6,82%, 2108 törzs mintáiban pedig 3,49% a citromsavkoncentráció-csökkenés a 24 és 48 órás minták között.

A citromsav termelés mindhárom törzs esetében magasabb volt a glükózzal készült táplevesben, mint a galaktóz felhasználásával készültben. A szénhidrátok citromsavtermelésre gyakorolt hatása jelentősebbnek bizonyult, mint ugyanazon szénhidrátok oxálsavtermelésre gyakorolt hatása.

9. táblázat: a vizsgált tejsavbaktériumtörzsek borkősav termelése 24 és 48 óra fermentációt követően (N.A.=Nincs Adat)

		Borkősav (g/l)	
		24 h	48 h
L.s. DSM	glükóz	0,0946±0,0239	0,3682±0,0564
	galaktóz	0,2126±0,0058	0,2065±0,0061
	laktóz	N.A.	N.A.
	maltóz	N.A.	N.A.
L.d. B397	glükóz	0,1084±0,0025	1,0051±0,0206
	galaktóz	0,2257±0,0187	0,2029±0,0110
	laktóz	N.A.	N.A.
	maltóz	N.A.	N.A.
L.pl. 2108	glükóz	0,0958±0	0,1005±0,0236
	galaktóz	0,2132±0,0120	0,2024±0,0053
	laktóz	N.A.	N.A.
	maltóz	N.A.	N.A.

A vizsgált törzsek különböző szénhidrátforrások mellett mérhető borkősav termelését a 9. táblázat foglalja össze.

A törzsek borkősavtermelése nagy különbséget mutatott glükóz szénhidrátforrás hatására: a 24 óráig termosztált mintákban ugyan nincs jelentős különbség, a 48 óráig inkubált minták alapján széles skálán helyezhetjük el a törzseket borkősavtermelés szempontjából: a L.d. B397 törzs kiemelkedően magas mennyiségben termelte, a mintában azonosított szerves savak közül negyedik legnagyobb mennyiségben (tejsav, ecetsav és propionsavat követve) borkősavat termelt. A L.s. DSM törzs borkősav termelése nem haladta meg a citromsav és oxálsav képződését, de mennyisége nem elhanyagolható. A L.pl. 2108 törzs borkősav termelése nem volt kiemelkedő.

Galaktózzal készült táplevesben a 24 óráig tenyésztett mintákban mértük a magasabb értékeket, a 48 órás fermentációt követően az összes törzs esetében a borkősav koncentrációja mérsékelten csökkent.

A borkősav termelésére a szénhidrát minősége jelentős befolyással volt, a tenyésztési idő pedig a csak glükózzal készült táplevesben okozott jelentős eltérést a különböző törzsek borkősav termelésére.

10. táblázat: a vizsgált tejsavbaktériumtörzsek almasav termelése 24 és 48 óra fermentációt követően (N.A.=Nincs Adat)

		Almasav (g/l)	
		24 h	48 h
L.s. DSM	glükóz	0,3774±0,0202	0,3377±0,0585
	galaktóz	N.A.	N.A.
	laktóz	0,4039±0,0317	0,3533±0,0219
	maltóz	0,3473±0,0021	0,3404±0,0028
L.d. B397	glükóz	0,4047±0,0078	0,3328±0,0066
	galaktóz	N.A.	N.A.
	laktóz	0,3404±0,0122	0,3156±0,0020
	maltóz	0,3620±0,0464	0,3758±0,0001
L.pl. 2108	glükóz	0,3735±0	0,3710±0,0901
	galaktóz	N.A.	N.A.
	laktóz	0,3309±0,0344	0,3254±0,0047
	maltóz	0,3550±0,0075	0,3542±0,0369

A vizsgált törzsek különböző szénhidrátforrások mellett mérhető almasav termelését a 10. táblázat foglalja össze.

A vizsgált minták eredményei alapján az almasav mennyisége a hosszabb termosztálás hatására az almasavkoncentráció csökken, a legnagyobb különbséget L.d. B397 és a L.s. DSM glükóz, illetve laktóz mintáiban mérhető. A különböző törzsek eltérő mértékben termeltek almasavat a különböző szénhidrátforrások hatására: a L.s. DSM törzs laktózból erjesztett a legnagyobb mennyiségben, a L.d. B397 és L.pl. 2108 törzs pedig glükózból.

11. táblázat: a vizsgált tejsavbaktériumtörzsek borostyánkósav termelése 24 és 48 óra fermentációt követően

		Borostyánkósav (g/l)	
		24 h	48 h
L.s. DSM	glükóz	0,3260±0,0185	0,2966±0,0132
	galaktóz	0,2786±0,0181	0,2700±0,0176
	laktóz	0,3888±0,0572	0,3396±0,0226
	maltóz	0,3682±0,0232	0,4269±0,0552
L.d. B397	glükóz	0,3119±0,0127	0,2902±0,0025
	galaktóz	0,2985±0,0308	0,2592±0,0212
	laktóz	0,3310±0,0071	0,3002±0,0144
	maltóz	0,3807±0,0296	0,3730±0,0044
L.pl. 2108	glükóz	0,2274±0,0752	0,3039±0,0149
	galaktóz	0,2665±0,0295	0,2620±0,0075
	laktóz	0,2997±0,0304	0,2929±0,0111
	maltóz	0,4270±0,0194	0,4002±0,0485

A vizsgált törzsek különböző szénhidrátforrások mellett mérhető borostyánkósav termelését a 11. táblázat foglalja össze.

A borostyánkősav-koncentráció néhány mintasorozatot leszámítva csökkent a hosszabb termosztálás hatására: a L.pl. 2108 törzs glükózzal tenyésztett mintájában 33,64% növekedést mértünk, de a többi szénhidráttal készített táplevesekben ez a törzs is csökkentette a borostyánkősav mennyiségét. A törzsek legnagyobb mértékű borostyánkősav termelést maltóz szénhidrátforrás mellett mutatnak, ezt követően laktóz táplevesben mértünk magas koncentrációt. A galaktóz szénhidrát hatására termelt borostyánkősav koncentrációja volt a legalacsonyabb.

12. táblázat: a vizsgált tejsavbaktériumtörzsek ecetsav termelése 24 és 48 óra fermentációt követően

		Ecetsav (g/l)	
		24 h	48 h
L.s. DSM	glükóz	2,4563±0,0907	2,4834±0,0575
	galaktóz	2,5597±0,1098	2,5708±0,0794
	laktóz	2,9085±0,0714	2,9369±0,1036
	maltóz	3,1729±0,1679	3,3777±0,0572
L.d. B397	glükóz	2,5778±0,0519	2,5304±0,0268
	galaktóz	2,5906±0,2257	2,5631±0,0946
	laktóz	2,8676±0,0735	2,8688±0,0213
	maltóz	3,4655±0,2377	3,6513±0,0921
L.pl 2108	glükóz	2,6596±0,0252	2,5502±0,0407
	galaktóz	2,5477±0,0565	2,6555±0,0453
	laktóz	2,9271±0,2334	2,9181±0,0703
	maltóz	3,5132±0,2058	3,2391±0,2549

A vizsgált törzsek különböző szénhidrátforrások mellett mérhető ecetsav termelését a 12. táblázat foglalja össze.

Az ecetsav mennyisége az inkubálási idő függvényében nagy mértékben nem változott (... táblázat), ez alól a L.pl. 2108 törzs maltóz mintája kivétel, amely esetében 7,8% a csökkenés mértéke. Mindhárom törzs esetében a maltóz szénhidráttal készült táplevesekben termeltek a tejsavbaktériumok nagyobb mennyiségű ecetsavat, a legalacsonyabb mennyiséget pedig glükóz, ezt követően pedig galaktóz szénhidrátforrás mellett termelték. A törzsek közül a L.pl 2108 termelt magasabb mennyiségű ecetsavat.

13. táblázat: a vizsgált tejsavbaktériumtörzsek propionsav termelése 24 és 48 óra fermentációt követően

		Propionsav (g/l)	
		24 h	48 h
L.s. DSM	glükóz	1,3756±0,0423	1,5240±0,0243
	galaktóz	1,4132±0,0468	1,4395±0,0741
	laktóz	1,4307±0,0055	1,4507±0,0127
	maltóz	1,4620±0,0305	1,4473±0,0654
L.s. B397	glükóz	1,5494±0,0904	1,5939±0,0122
	galaktóz	1,3904±0,1100	1,3619±0,0561
	laktóz	1,4353±0,0248	1,4156±0,0193
	maltóz	1,3103±0,0951	1,5127±0,0279
L.pl. 2108	glükóz	1,5134±0,0110	1,6141±0,0046
	galaktóz	1,4302±0,1353	1,4284±0,0465
	laktóz	1,3946±0,1078	1,3869±0,0127
	maltóz	1,4992±0,0378	1,4272±0,0377

A vizsgált törzsek különböző szénhidrátforrások mellett mérhető propionsav termelését a 13. táblázat foglalja össze.

A propionsav koncentrációja a 24 óráig termosztált mintákban kist mértékben magasabb volt, mint a 48 órás mintákban, ez alól a glükózzal készült táplevesek kivételek, ott emelkedtek a propionsav koncentrációk. A legmagasabb koncentrációt mindhárom törzs glükóz szénhidrátforrás mellett érte el.

A vizsgált szerves savak közül a propionsav-koncentrációra van a legkisebb hatással az általunk megváltoztatott tényezők, mint a tenyésztési időtartam, felhasznált törzsek és szénhidrátok.

14. táblázat: a vizsgált tejsavbaktériumtörzsek hangyasav termelése 24 és 48 óra fermentációt követően (N.A. = Nincs Adat)

		Hangyasav (g/l)	
		24 h	48 h
L.s. DSM	glükóz	N.A.	N.A.
	galaktóz	N.A.	N.A.
	laktóz	N.A.	N.A.
	maltóz	0,6252±0,1883	0,7725±0,2267
L.d. B397	glükóz	N.A.	N.A.
	galaktóz	N.A.	N.A.
	laktóz	N.A.	N.A.
	maltóz	0,9319±0,0613	1,0474±0,0094
L.pl. 2108	glükóz	N.A.	N.A.
	galaktóz	N.A.	N.A.
	laktóz	N.A.	N.A.
	maltóz	0,8431±0,0714	0,8780±0,1523

A vizsgált törzsek különböző szénhidrátforrások mellett mérhető hangyasav termelését a 14. táblázat foglalja össze.

Nagyobb mennyiségű hangyasavat csak a maltózzal készített mintákban tudtunk kimutatni. Az eredményeink alapján a L.s. DSM törzs mintáiban mértük a legkisebb mennyiséget, a legmagasabbat a L.d. B397 törzs 24 órás mintájában, ez a mennyiség a következő 24 óra tenyésztés hatására kis mértékben csökkent, a 48 órás L.d. B397 és a L.pl. 2108 törzs mintáiban közel azonos mennyiségű hangyasavat mértünk.

15. táblázat: a vizsgált tejsavbaktériumtörzsek összes szervessav termelése 24 és 48 óra fermentációt követően

		Összes szervessav (g/l)	
		24 h	48 h
L.s. DSM	glükóz	18,2066	22
	galaktóz	19,2284	22,2462
	laktóz	13,3858	18,5552
	maltóz	7,2121	7,9769
L.d. B397	glükóz	21,4894	24,1543
	galaktóz	18,8568	24,9483
	laktóz	18,0322	20,6812
	maltóz	7,925	8,978
L.pl. 2108	glükóz	17,7615	22,2559
	galaktóz	19,8845	22,4956
	laktóz	16,9755	19,7558
	maltóz	7,9604	7,4838

A vizsgált törzsek különböző szénhidrátforrások mellett mérhető összes szervessav termelését a 15. táblázat foglalja össze.

A minták összes szervessav-tartalma a hosszabb tenyésztési idő hatására növekedett – ez alól az L.pl. 2108 maltóz mintája kivétel, ahol kis mértékű csökkenést tapasztaltunk, bár ezt a minták pH értékében tapasztalt változások nem támasztják alá. A vizsgált törzsek galaktóz szénhidrátforrás mellett termeltek legmagasabb mennyiségben szerves savakat, legkisebb mennyiségben pedig maltóz szénhidrát mellett. A glükóz hatására termelt szerves sav mennyisége csak kis mértékben marad el a galaktóz táplevesben termelt mennyiséghez képest. A tejsavbaktériumok laktózt tartalmazó táplevesben kevesebb szerves savat termelnek, mint glükóz és galaktóz szénhidrátokat tartalmazó oldatban.

16. táblázat: a vizsgált tejsavbaktériumtörzsek tejsavtermelésének részaránya az összes szervessav-termelésben

		24 h	48 h
L.s. DSM	glükóz	66,73%	69,75%
	galaktóz	70,43%	74,77%
	laktóz	57,26%	72,62%
	maltóz	17,14%	20,21%
L.d. B397	glükóz	68,66%	69,03%
	galaktóz	69,30%	61,60%
	laktóz	72,41%	76,31%
	maltóz	18,60%	22,47%
L.pl. 2108	glükóz	62,24%	70,11%
	galaktóz	71,28%	74,55%
	laktóz	70,83%	75,08%
	maltóz	16,62%	19,74%

A vizsgált törzsek különböző szénhidrátforrások mellett mérhető tejsav részarányát az összes szervessav tartalomban a 16. táblázat foglalja össze.

A minták tejsavmennyiségének hányada az összes szervessav mennyiségéhez képest a hosszabb tenyésztési időtartam hatására növekedett, kivéve a L.d. B397 galaktóz mintájában.

A L.s. DSM és L.pl. 2108 törzs a galaktózt tartalmazó táplevesben jelentősen magasabb sejtkoncentrációt tudott elérni, mint a glükózzal készített táplevesben, ez a tejsav-szervessav arányban is látható. A L.d. B397 törzs szaporodása kevésbé volt befolyásolható a szénhidrát minőségével, de a galaktózt tartalmazó mintákban magasabb sejtkoncentrációt

mértünk, ennek ellenére a glükózzal készített mintákban magasabb arányban mértünk tejsavat.

A maltóz esetében jelentősen kisebb mértékben termeltek a vizsgált törzsek tejsavat, viszont számos más szerves savat, mint hangyasavat és ecetsavat a maltózzal készített mintákban tudunk legnagyobb koncentrációban azonosítani, ez okozza az alacsony tejsav részarányt a szervessav-tartalomban. A szaporodási rátájuk a törzseknek szintén ezekben a mintákban volt a legalacsonyabb. Bár a tejsav részaránya a szerves savakban 50% alatt van, ezekben a mintákban is a tejsav volt a legmagasabb koncentrációban megtalálható szerves sav.

A tejsav-ecetsav aránya alkalmas arra, hogy a fermentáció jellegét meghatározzuk. A tejsav-ecetsav aránya egy mintában sem érte el a 6:1 értéket, a heterofermentatív metabolizmus határa 8:1, ezt fermentációs hányadosnak is nevezzük (QF) (Zalán, 2008). A fermentációs hányados alapján az összes szénhidrát mindhárom törzs esetében heterofermentatív módon került lebontásra.

6 Összefoglalás

A tejsavbaktériumok évezredek óta alkalmazott mikrobák az élelmiszerek előállításában, de tudatos használatának feltétele csak a mikrobiológia tudományágának kialakulása révén vált lehetővé. A kémiai és fizikai tartósítási eljárások mellett a biológiai tartósítás mindig is jelen volt az élelmiszeriparban és a gasztronómiában, az érdeklődés a fermentált termékek iránt pedig növekszik az egészségtudatos étrend térnyerésének köszönhetően.

A tejsavbaktériumokat az élelmiszeriparban széleskörűen alkalmazzák, a költséghatékonyság és a folyamatok optimalizálása céljából kiemelt fontosságú a metabolizmusuk jellemzése, megismerése. A méréseim során a szénhidrátok hasznosításának eredményeképpen látható változásokat írtam le a sejtgyarapodásban, közeg kémhatásában és a szervessav-profil jellemzését végeztem el.

A glükóz, laktóz és galaktózt tartalmazó táplevesekben mérhető szaporodási sebesség mindhárom vizsgált törzs esetében magas volt, és az első 24 órában elérték a tenyészetek az exponenciális szakasz végét. A maltózt tartalmazó táplevesekben a sejtkoncentráció növekedés alacsonyabb volt, 24 órán belül nem érték el a tenyészetek a stacionárius szakaszt. Ez alapján következtethetünk arra, hogy a vizsgált tejsavbaktériumok a maltózt sokkal kisebb hatékonysággal képesek hasznosítani, mint a többi vizsgált szénhidrátot.

A sejtkoncentráció növekedése és a közeg pH változása közvetlen kapcsolatban van, a közeg kémhatása csökken a sejtkoncentráció növekedésével párhuzamosan. Azok a szénhidrátok, melyek a törzsek gyorsabb növekedését eredményezték, a pH nagyobb mértékű csökkenését segítették elő. A pH változását nem befolyásoltuk más módon, savas kémhatás mellett a tejsavbaktériumok metabolizmusa megváltozik, ezen hatások vizsgálatára nem tértek ki kísérleteink. A közeg pH változása a hosszabb tenyésztési idő hatására csökkent, amit a szervessav-termelés lassulása befolyásolt.

A glükóz, laktóz és galaktóz jelenléte mellett a vizsgált törzsek legjelentősebb anyagcserefolyamata a tejsavas erjedés. A galaktózt tartalmazó táplevesben érték el a tejsavbaktériumok a legmagasabb sejtkoncentrációt, és a tejsavas erjedés hányada szintén magasabb volt, mint a glükózzal készített mintákban. A laktóz annak ellenére, hogy a sejtenyészetek nem a laktózt tartalmazó táplevesben szaporodtak legnagyobb mértékben, a tejsav nagy hányadát tette ki az összes szervessav-tartalomnak. Mivel a HPLC mérési program tökéletlensége miatt nem pontosak az eredményeink ezzel kapcsolatban, és a nem számszerűsíthető savtartalmak okozta adatvesztés 1,5-2 g/l alacsonyabb koncentrációt eredményez, a glükóz és galaktóz esetében mérhető szervessav-tartalomhoz képest, ezért

nem jelenthető ki, hogy a laktóz szénhidrátforrás mellett a tejsavas erjedés az anyagcserefolyamatokban kitett hányada magasabb lenne a többi szénhidrátéhoz képest.

A lejátszódó anyagcserefolyamatokat a magas ecetsavtartalom miatt heterofermentációhoz soroljuk mindegyik szénhidrátforrás mellett, mindhárom törzs esetében.

A maltóz amellet, hogy a másodlagos anyagcserefolyamatokat elősegítette, a tejsavas fermentáció ebben a közegben alacsonyabb volt, így a maltózzal készült táplevesekben a tejsavbaktériumok elsődleges fermentációs folyamata az ecetsavas erjedés volt. A maltóz jelenléte bár alacsonyabb mértékű tejsavtermelést eredményezett, a sejtkoncentrációhoz viszonyítva legmagasabb mennyiségben tejsavat mértünk a mintákban.

A magasabb tejsavtermelés nem jár egyértelműen magasabb D-tejsavtermeléssel. A glükózt tartalmazó táplevesben magasabb volt a D-tejsav termelése, a maltózzal készített mintákban pedig alacsonyabb.

A tejsavas erjedés mellett az ecetsavas, illetve a propionsavas fermentáció bizonyult a legjelentősebbnek. A mintákban az említett savak mellett megtalálhatóak voltak az oxálsav, citromsav, almasav, borkósav, borostyánkősav és a hangyasav is. Ezek aránya szénhidrátforrás és törzsfüggő.

A törzsek bármiféle rangsorolását megkönnyítené, ha a méréseket részletesebb időbeli felbontásban végezzük 0 és 24 óra közötti tenyésztési időszakban, ugyanis több esetben a 24 órás tenyésztést követően csupán kismértékű változást tapasztalhattunk, illetve nem volt lehetőségünk az esetleges lappangási szakasz megállapítására sem.

7 Irodalomjegyzék

1. Ammor, M. S., Flórez, A. B., & Mayo, B. (2007). Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiology*, 24(6), 559–570. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.11.001>
2. Avonts, L., Uytven, E., & De Vuyst, L. (2004). Cell growth and bacteriocin production of probiotic *Lactobacillus* strains in different media. *International Dairy Journal*, 14, 947–955. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.04.003>
3. Beshkova, D., Simova, E., Frengova, G., Simov, Z., & Dimitrov, Z. (2003). Production of volatile aroma compounds by kefir starter culture. *International Dairy Journal - INT DAIRY J*, 13, 529–535. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00058-X](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00058-X)
4. Brink, B. ten, Minekus, M., van der Vossen, J. m. b. m., Leer, R. j., & Veld, J. H. J. H. in't. (1994). Antimicrobial activity of lactobacilli: Preliminary characterization and optimization of production of acidocin B, a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* M46. *Journal of Applied Bacteriology*, 77(2), 140–148. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1994.tb03057.x>
5. Dalloul, R. A., Lillehoj, H. S., Tamim, N. M., Shellem, T. A., & Doerr, J. A. (2005). Induction of local protective immunity to *Eimeria acervulina* by a *Lactobacillus*-based probiotic. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 28(5–6), 351–361. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2005.09.001>
6. Corsetti, A., Gobbetti, M., Rossi, J., & Damiani, P. (1998). Antimould activity of sourdough lactic acid bacteria: identification of a mixture of organic acids produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CB1. *Applied microbiology and biotechnology*, 50(2), 253–256. <https://doi.org/10.1007/s002530051285>
7. Fuller, R. (1992). History and development of probiotics. In R. Fuller (Szerk.), *Probiotics: The scientific basis* (o. 1–8). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-011-2364-8_1
8. Gänzle, M. G. (2015). Lactic metabolism revisited: Metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Current Opinion in Food Science*, 2, 106–117. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.03.001>
9. Higa, T., & Kinjo, S. (2004) Effect of Lactic Acid Fermentation Bacteria on Plant Growth and Soil Humus Formation. 6.
10. Iskandar, C. F., Cailliez-Grimal, C., Borges, F., & Revol-Junelles, A.-M. (2019). Review of lactose and galactose metabolism in Lactic Acid Bacteria dedicated to expert genomic annotation. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 121–132. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.020>
11. Joint FAO/WHO Expert Committee (2001). Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria – Joint FAO/WHO Expert Consultation.2014. <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.580.8166&rep=rep1&type=>
12. Kasimoğlu, A., Göncüoğlu, M., & Akgün, S. (2004). Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*. *International Dairy Journal*, 14(12), 1067–1073. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.04.006>

13. Kim, H., Kim, T., Kang, J., Kim, Y., & Kim, H. (2020). Is *Lactobacillus* Gram-Positive? A Case Study of *Lactobacillus iners*. *Microorganisms*, 8(7), 969. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8070969>
14. Kaneuchi, C., Seki, M., & Komagata, K. (1988). Production of succinic Acid from citric Acid and related acids by *Lactobacillus* strains. *Applied and environmental microbiology*, 54(12), 3053–3056. <https://doi.org/10.1128/aem.54.12.3053-3056.1988>
15. Lan, P. T. N., Binh, L. T., & Benno, Y. (2003). Impact of two probiotic *Lactobacillus* strains feeding on fecal *Lactobacilli* and weight gains in chicken. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 49(1), 29–36. <https://doi.org/10.2323/jgam.49.29>
16. Limanska, N., Ivanytsia, T., Basiul, O., Krylova, K., Biscola, V., Chobert, J.-M., Ivanytsia, V. O., & Haertlé, T. (2013). Effect of *Lactobacillus plantarum* on germination and growth of tomato seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1200-y>
17. Monedero, V., Yebra, M. J., Poncet, S., & Deutscher, J. (2008). Maltose transport in *Lactobacillus casei* and its regulation by inducer exclusion. *Research in Microbiology*, 159(2), 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2007.10.002>
18. Moon, S.-K., Wee, Y.-J., & Choi, G.-W. (2012). A novel lactic acid bacterium for the production of high purity L-lactic acid, *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei* CHB2121. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 114(2), 155–159. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2012.03.016>
19. Morishita, T., & Yajima, M. (1995). Incomplete Operation of Biosynthetic and Bioenergetic Functions of the Citric Acid Cycle in Multiple Auxotrophic *Lactobacilli*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 59(2), 251–255. <https://doi.org/10.1271/bbb.59.251>
20. Ojha, K. S., Kerry, J. P., Duffy, G., Beresford, T., & Tiwari, B. K. (2015). Technological advances for enhancing quality and safety of fermented meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 44(1), 105–116. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.03.010>
21. Oude Elferink, S. J. W. H., Krooneman, J., Gottschal, J. C., Spoelstra, S. F., Faber, F., & Driehuis, F. (2001). Anaerobic Conversion of Lactic Acid to Acetic Acid and 1,2-Propanediol by *Lactobacillus buchneri*. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(1), 125–132. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.1.125-132.2001>
22. Pan, D. D., Wu, Z., Peng, T., Zeng, X. Q., & Li, H. (2014). Volatile organic compounds profile during milk fermentation by *Lactobacillus pentosus* and correlations between volatiles flavor and carbohydrate metabolism. *Journal of Dairy Science*, 97(2), 624–631. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7131>
23. Pázmándi, M. (2020). Savó permeátum enzimes és mikrobiológiai konverziója hozzáadott értéket képviselő termékek előállítására céljából. https://archive.unim-ate.hu/sites/default/files/pazmandi_melinda_ertekezes.pdf
24. Russo, P., Fares, C., Longo, A., Spano, G., & Capozzi, V. (2017). *Lactobacillus plantarum* with Broad Antifungal Activity as a Protective Starter Culture for Bread Production. *Foods (Basel, Switzerland)*, 6(12), E110. <https://doi.org/10.3390/foods6120110>
25. Torino, M. I., Taranto, M. P., Sesma, F., & de Valdez, G. F. (2001). Heterofermentative pattern and exopolysaccharide production by *Lactobacillus helveticus* ATCC 15807 in response to environmental pH. *Journal of Applied Microbiology*, 91(5), 846–852. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01450.x>

26. Zalán, Z. (2008). Tejsavbaktériumok szelektálása romlást okozó élesztők gátlására. http://phd.lib.uni-corvinus.hu/322/1/zalan_zsolt.pdf
27. Zalán, Z., Hudáček, J., Štětina, J., Chumchalová, J., & Halász, A. (2010a). Production of organic acids by *Lactobacillus* strains in three different media. *European Food Research and Technology*, 3(230), 395–404. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1179-9>
28. Zhao, X., & Gänzle, M. G. (2018). Genetic and phenotypic analysis of carbohydrate metabolism and transport in *Lactobacillus reuteri*. *International Journal of Food Microbiology*, 272, 12–21. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.02.021>

Nagy Levente Szakdolgozat

8 Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni elsősorban témavezetőmnek, **Mohácsiné Dr. Farkas Csillának** a szakdolgozatom elkészítésében való útmutatást, támogatást.

Szeretném továbbá megköszönni **Dr. Pázmándi Melindának** a munkám során átadott tudást, segítséget, anyagokat és eszközöket.

További köszönettel tartozom az **Élelmiszer-mikrobiológiai, -biztonsági és -higiéniai Tanszék** minden munkatársának a méréseim segítségét, útmutatások nyújtását.

Végül szeretném megköszönni **Családomnak, Páromnak** és **Munkatársaimnak** a végtelen türelmét és támogató szavait.

Nagy Levente Szakdolgozat

Szerzői nyilatkozat

Alulírott Nagy Levente

Élelmiszermérnök BSc

kijelentem, hogy a Tejsavbaktériumok szervessav termelése különböző összetettségű szénhidrátforrások mellett című

szakdolgozat a saját munkám eredménye. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, s az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

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

Budapest, 2022.04.24.


a hallgató aláírása

NYILATKOZAT

a szakdolgozat, diplomamunka nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A szerző neve: Nagy Levente

A dolgozat címe: Tejsavbaktériumok szervessav termelése különböző összetettségű szénhidrátforrások mellett

A megjelenés éve: 2022

A tanszék neve: Élelmiszer-mikrobiológiai, -biztonsági és -higiéniai Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott szakdolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom.

A leadott dolgozat, mely védett, a szerző nevének vízjelével ellátott pdf dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.


Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a SZIE Budai Campus Igazgatóság Entz Ferenc Könyvtár és Levéltár szakdolgozat archívumába.

A dolgozat bibliográfiai leírása az Entz Ferenc Könyvtár és Levéltár elektronikus katalógusából érhető el: <http://opac.szie.hu/entzferenc/>. A teljes szöveg kizárólag a Budai Campus számítógépeiről tekinthető meg.

Tudomásul veszem, hogy a vízjel nélkül leadott dokumentum szerzői jogai sérülhetnek.

A Nyilatkozat a dolgozat adatainak megadásával érvényes, melyet az elektronikus hordozóval együtt leadok.

Budapest, 2022.04.24.


.....
a szerző aláírása