

# SZAKDOLGOZAT

Győri Kata

2023

**Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem**  
**Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet**  
Biomérnök és Erjedéssipari Technológia Tanszék



Probiotikus *Bifidobacterium* törzsekkel fermentált vegyes  
gyümölcslevek vizsgálata

Győri Kata  
Budapest  
2023

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

**Szak neve:** BSc Biomérnöki

**Modul neve:** Alkalmazott biotechnológiai

**Modul szerinti tanszék:** Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék

**Szakdolgozat készítés helye:** Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék

**Hallgató:** Győri Kata

**A szakdolgozat címe:**

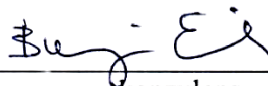
Probiotikus *Bifidobacterium* törzsekkel fermentált egyes gyümölcslevek vizsgálata

**Konzulens:** Dr. Bujna Erika, egyetemi docens

**Beadás dátuma:** 2023. április 28.



szakdolgozat készítés helyének vezetője  
Dr. Nguyen Duc Quang



konzulens  
Dr. Bujna Erika



Dr. Nguyen Duc Quang  
modul szerinti tanszék vezetője

# Tartalomjegyzék

|                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. BEVEZETÉS.....                                                                                                       | 1  |
| 2. A MUNKA CÉLJA .....                                                                                                  | 3  |
| 3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....                                                                                             | 4  |
| 3.1. Funkcionális élelmiszerek.....                                                                                     | 4  |
| 3.1.1. A funkcionális élelmiszerek fiziológiai hatása .....                                                             | 5  |
| 3.1.2. A funkcionális élelmiszerek piaca .....                                                                          | 6  |
| 3.2. Az emberi emésztőrendszer mikrobiótája.....                                                                        | 7  |
| 3.3. Probiotikumok .....                                                                                                | 9  |
| 3.3.1. A probiotikumok alkalmazása a gyógyításban .....                                                                 | 11 |
| 3.3.2. A <i>Bifidobacterium</i> nemzetség .....                                                                         | 13 |
| 3.4. Prebiotikumok.....                                                                                                 | 15 |
| 3.5. Szinbiotikumok.....                                                                                                | 16 |
| 3.6. A gyümölcs alapú funkcionális élelmiszerek .....                                                                   | 16 |
| 3.6.2. Probiotikus fermentált gyümölcslevek.....                                                                        | 19 |
| 3.6.3. Kihívások, lehetőségek .....                                                                                     | 21 |
| 4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....                                                                                            | 23 |
| 4.1. Felhasznált mikroorganizmusok .....                                                                                | 23 |
| 4.2. Tápközegek.....                                                                                                    | 23 |
| 4.2.1. Laboratóriumi tápközegek .....                                                                                   | 23 |
| 4.2.2. Gyümölcs alapú tápközeg .....                                                                                    | 24 |
| 4.3. Alkalmazott prebiotikum .....                                                                                      | 25 |
| 4.4. Fermentáció során végzett vizsgálatok .....                                                                        | 25 |
| 4.4.1. Fermentáció körülményei.....                                                                                     | 25 |
| 4.4.2. pH mérés .....                                                                                                   | 25 |
| 4.4.3. Élőcsíraszám meghatározása.....                                                                                  | 25 |
| 4.5. Tolerancia vizsgálat gyomorsav és epesav esetén .....                                                              | 26 |
| 4.5.1. Gyomorsavat modellező oldat.....                                                                                 | 26 |
| 4.5.2. Epesavat modellező oldat.....                                                                                    | 26 |
| 4.5.3. Tolerancia vizsgálat .....                                                                                       | 26 |
| 4.6. Tárolási kísérlet.....                                                                                             | 27 |
| 4.7. Szerves sav és szénhidráttartalom meghatározása HPLC módszerrel.....                                               | 27 |
| 4.7.1. A minták előkészítése .....                                                                                      | 27 |
| 4.7.2. Az alkalmazott HPLC berendezés .....                                                                             | 27 |
| 5. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK .....                                                                            | 28 |
| 5.1. Vegyes gyümölcs alapú tápközeg fermentálhatóságának vizsgálata probiotikus <i>Bifidobacterium</i> törzsekkel ..... | 28 |
| 5.1.1. pH értékek és sejtszámok alakulása 1% inokulummal indított fermentáció esetén .....                              | 28 |
| 5.1.2. pH értékek és sejtszámok alakulása 5% inokulummal indított fermentáció esetén .....                              | 30 |
| 5.1.3. Szerves sav tartalom vizsgálata.....                                                                             | 33 |

|                                                                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.1.4. Szénhidráttartalom vizsgálata .....                                                                                   | 34 |
| 5.2. <i>Bifidobacterium longum</i> DSM 16603 törzzsel fermentált vegyes gyümölcsle<br>tolerancia vizsgálata.....             | 35 |
| 5.2.1. Sejtszámok alakulása gyomorsavas kezelést követően.....                                                               | 35 |
| 5.2.2. Sejtszámok alakulása epesavas kezelést követően.....                                                                  | 36 |
| 5.3. Monokultúrával fermentált vegyes gyümölcsle tárolási kísérlete .....                                                    | 37 |
| 5.3.1. A pH és a sejtszámok alakulása, valamint a minták szerves sav és<br>szénhidráttartalma szobahőmérsékleten.....        | 38 |
| 5.3.2. A pH és a sejtszámok alakulása, valamint a minták szerves sav és<br>szénhidráttartalma hűtött körülmények között..... | 41 |
| 6. ÖSSZEFOGLALÁS .....                                                                                                       | 45 |
| 7. IRODALMI HIVATKOZÁSOK.....                                                                                                | 47 |

GYŐRI KATA SZAKDOLGOZAT

# 1. BEVEZETÉS

Az élelmiszeriparban napjaink innovációi nagymértékben fókuszálnak a funkcionális élelmiszerekre, amelynek alapja az emberek egészségtudatosságának erősödése, így egyre növekvő a kereslet a vegyi- és adalékanyagmentes, továbbá egészségügyi előnyökkel járó termékek iránt.

Felgyorsult világunkban igen elterjedt a nem megfelelő táplálékbevitel, amelyet legjobban a fast-food ételek és éttermek térhódítása bizonyít. A népesség körében egyre inkább fellelhető civilizációs betegségekre, az elhízásra, a szív- és érrendszeri, a daganatos és légzőszervi megbetegedésekre, valamint a cukorbetegségre jelenthetnek megoldást a funkcionális élelmiszerek. Amellett, hogy jótékony hatást fejtenek ki a fogyasztóra, biztosítják a szükséges tápanyagok bevitelét. Funkcionális élelmiszerek többek között a fermentált, a pre- és/vagy probiotikumokkal, esetleg vitaminokkal és ásványi anyagokkal dúsított termékek.

A probiotikumoknak számos jótékony egészségügyi hatás tulajdonítható, azonban ezek érvényesüléséhez a bevitt élő baktériumoknak el kell jutnia az emésztőrendszer megfelelő helyére. A probiotikumok életképességének megőrzése, valamint a bélrendszerben történő kolonizációjuk elősegítése esetlegesen prebiotikummal történő dúsítással tehát kulcskérdés az élelmiszeripar számára.

A probiotikus termékek piacán jelenleg a tej alapú funkcionális élelmiszerek a legelterjedtebbek, azonban a világ népességének több, mint felét érintő laktózintolerancia, valamint a fogyasztók körében népszerű trendek, például a vegetarianizmus, mind növelték a zöldség és gyümölcs alapú probiotikus élelmiszerek iránti igényt.

A gyümölcs alapú termékek számos előnnyel rendelkeznek, amelyek miatt jó alternatívaként szolgálnak a tej alapúakkal szemben. A különféle vitaminokban, rostokban és ásványi anyagokban gazdag gyümölcsök ideális tápanyagforrásként szolgálnak a mikroorganizmusok számára, valamint számos kedvező egészségügyi hatással is rendelkeznek. Mindezek mellett elmondható, hogy a gyümölcsökről általánosan pozitív kép él a legtöbb korosztály fejében, ezáltal gyakran fogyasztott és kedvelt élelmiszerek, amely könnyebbé teszi a probiotikus termékek fogyasztókkal történő elfogadtathatóságát. Különböző zöldség- és gyümölcslevekből készültek már probiotikus élelmiszerek, többek között alma, ananász, áfonya, barack, eper, narancs, sárgarépa, paradicsom és feketeribizli felhasználásával.

A gyümölcslevek alapvető tápanyagtartalmuk miatt ígéretes szubsztrátumnak tekinthetők a probiotikus baktériumok számára, azonban az ilyen típusú funkcionális élelmiszerek fejlesztése számos kihívást is tár a kutatók elé. A probiotikumok életképességének megőrzése mind a tárolási folyamat, mind az emésztőrendszeren történő áthaladás során kulcsfontosságú, valamint a termék érzékszervi jellemzőire gyakorolt negatív hatásokkal is számolni kell.

Mindezen ismeretek alapján döntöttem úgy, hogy csatlakozom a Biomérnök és Erjedéstechnológia Tanszék kutatómunkájához és szakdolgozatomban a probiotikus törzsekkel fermentált vegyes gyümölcsleveket vizsgálom.

## 2. A MUNKA CÉLJA

Jelenleg a funkcionális élelmiszerek piacán legnagyobb számban tej alapú készítmények érhetők el. Azonban a világon egyre nagyobb mértékben terjedő allergiás, valamint szív- és érrendszeri megbetegedések miatt a tejben megtalálható allergének nagy száma, valamint magas koleszterintartalma miatt ezek a termékek nem jelentenek megfelelő alternatívát sok fogyasztói réteg számára. A laktóztoleranciában, esetleg tejfehérje allergiában szenvedők, valamint a növényi alapú étrendet követők nem fogyaszthatják ezeket a termékeket, így számukra jó lehetőséget kínálnak a gyümölcs alapú funkcionális élelmiszerek.

Probiotikus készítmények előállításához kitűnő alapot szolgáltatnak a gyümölcsök, hiszen gazdag forrásai vitaminoknak, rostoknak és ásványi anyagoknak. Amellett, hogy megfelelő tápanyagforrást jelentenek a baktériumok számára, kellemes, közkedvelt ízprofiljuk vonzóbbá teszi a termékeket a fogyasztók számára.

Munkám alapvető célja egy olyan probiotikus *Bifidobacterium* törzssel fermentált alma, meggy és szilva alapú ital vizsgálata, amely annak érdekében, hogy kedvező egészségügyi hatásait kifejtsen, megfelelő számban tartalmaz életképes baktériumokat. Továbbá munkám célja volt megállapítani, hogy prebiotikum hozzáadása fokozza-e a probiotikumok életképességét, valamint befolyásolja-e a gyümölcslé eltarthatóságát.

Mindezek alapján a következő részfeladatok megvalósítását terveztem:

- Vegyes gyümölcs alapú tápközeg fermentálhatóságának vizsgálata probiotikus *Bifidobacterium* törzsekkel 1%-os és 5%-os inokulum tenyésztéssel indított fermentációk esetén
  - Az elvégzett vizsgálatok alapján kiválasztani a legjobb eredményeket produkáló törzset, majd alkalmazni a további kísérletek során
- *Bifidobacterium longum* DSM 16603 törzssel fermentált vegyes gyümölcslé gyomor- és epesavval szembeni tolerancia vizsgálata
- Monokultúrával fermentált vegyes gyümölcslében a probiotikum életképességének vizsgálata tárolás során
  - Szobahőmérsékleten
  - Hűtött körülmények között

A fermentációs folyamatok nyomon követésének érdekében vizsgáltam a pH és az élőcsíraszám alakulását, valamint a minták szerves sav és szénhidráttartalmát.

Kísérleteimet a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Biomérnök és Erjedézipari Technológia Tanszékén végeztem.



### 3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

#### 3.1. Funkcionális élelmiszerek

A „funkcionális élelmiszer” elnevezést elsőként Japánban írták le 1985-ben. Olyan élelmiszereket tekintettek funkcionálisnak, amelyek amellett, hogy táplálékok, a szervezet megfelelő működésében is hasznosak lehetnek (Bartal, 2015).

A funkcionális élelmiszer az az élelmiszer, amely megfelelő mennyiségben tartalmaz olyan alkotóelemeket, amelyek egy vagy több életfunkcióra pozitívan hatnak, rendszeres fogyasztásuk hozzájárul a táplálkozással kialakuló megbetegedések kockázatának csökkenéséhez, a betegségek utáni gyorsabb regenerációhoz, valamint a mentális jólét állapotához és mindezek mellett öregedésgátló hatásokkal is rendelkezhetnek. A hagyományos élelmiszerek energia- és tápértéke mellett egészségvédő hatást fejtenek ki, valamint kizárólag élelmiszer formájában kínálhatók, tabletta vagy kapszula készítményekként nem (Barcs és Jenes, 2017; Csapó et al, 2016).

Többféle módon válhat egy élelmiszer funkcionálissá, például élelmi rostok, biológiailag aktív komponensek, valamint prebiotikumok hozzáadásával. Az élelmi rostok növényi sejtalkotó komponensek, melyek kedvező hatással vannak a bélműködésre. Megtalálhatók gabonafélékben, zöldségekben és gyümölcsökben. Hozzáadott biológiailag aktív komponensek lehetnek probiotikumok, mikroelemek, továbbá antioxidánsok. A legfontosabb antioxidánsok a likopin, az aszkorbinsav, a tokoferolok, a flavonoidok és a karotinoidok, amelyek különféle zöldségekben, gyümölcsökben és gabonamagvakban fordulnak elő. A mikroelemek esszenciálisak, az enzimek kofaktoraiként is szerepük van. Egyre több mikroelemmel dúsított élelmiszer kapható, például a szelénos kenyér, vagy a jódozott só. A többszörösen telítetlen zsírsavak közül a linolsav (omega-6 zsírsav) és az alfa-linolénsav (omega-3 zsírsav) esszenciális tápanyagok, a szervezetbe való bejuttatásuk táplálkozás útján történik. Halak húsból, illetve növényi táplálékokból, magvakból nyerhetők, szerepet játszanak a vér koleszterinszintjének csökkentésében. A nem emészthető oligoszacharidok prebiotikumként adagolhatók és kedvező hatással vannak a bélben élő jótékony hatású mikroorganizmusok fejlődésére (Bartal, 2015; Csapó et al., 2016).

A funkcionális élelmiszerek többféleképpen csoportosíthatók. Eredetüket tekintve három csoport alakítható ki: növényi (pl.: szőlő, paradicsom, zab, szója, fokhagyma), állati (pl.: hal, tej, tejtermékek) és ásványi eredetűek (Bartal, 2015; Madai, 2008).

Egy másik elmélet szerint (Maurya et al., 2021) a funkcionális élelmiszerek két csoportja a feldolgozott és a fermentált élelmiszerek. A feldolgozott élelmiszerek előállításának fő célja a tápérték megőrzése mellett az eltarthatóság növelése. Az előállításuk során alkalmazott műveletek közé tartozik többek között a szárítás, a fagyasztás, a füstölés, a sózás, a pácolás, a befőzés és a vákuumcsomagolás. A fermentált élelmiszerek is feldolgozott élelmiszerek, azonban a különféle fizikai és kémiai kezelések helyett mikrobiális kezelést kaptak, amelyet fermentációnak neveznek. A megfelelő körülmények között megvalósuló fermentációnak köszönhetően a mikrobák enzimmészletük segítségével az összetett tápanyagokat egyszerű, könnyebben felszívódó termékekké alakítják, jelentős mértékben módosítva az élelmiszerek fizikai és biokémiai tulajdonságait (Maurya et al., 2021).

Az Európai Bizottság a funkcionális élelmiszerek négy csoportját különbözteti meg (Barcs és Jenes, 2017; Pop et al., 2019):

- Természetes élelmiszer, amely bármiféle technológiai vagy növény-nemesítési eljárástól mentes (pl.: gyümölcs, zöldség)
- Élelmiszer hozzáadott speciális komponenssel (pl.: gabona hozzáadott vitaminnal)
- Élelmiszer, amelyből bizonyos komponenseket kivontak / amelyben bizonyos komponenseket csökkentettek (pl.: cukormentes vagy zsírszegény joghurt)
- Élelmiszer, amelyben bizonyos komponenseket helyettesítettek vagy módosítottak annak érdekében, hogy növeljék az egészségre gyakorolt pozitív hatását (pl.: joghurt hozzáadott pre- és/vagy probiotikumokkal)

### **3.1.1. A funkcionális élelmiszerek fiziológiai hatása**

Funkcionális élelmiszerek fogyasztásakor különféle fiziológiai hatások várhatók el, ezek lehetnek pl.: antimutagén, immunmodulátor, neuroregulatív, ösztrogén-, vérnyomás-, koleszterinszint csökkentő és allergénmentesítő hatás, ezek mellett az oxidatív károsodások, valamint a mikrobás fertőzések gátlása is lehetséges. Sokat említik a funkcionális élelmiszereket a daganatos megbetegedések megelőzésével kapcsolatban, mely jótékony hatásban szerepe lehet a karotinoidoknak, a C-, B<sub>12</sub>-, E-, A-vitaminoknak és a folsavnak. Kifejlesztettek ún. szívbarát élelmiszereket a szív- és keringési megbetegedések megelőzésére, melyek koleszterinszint csökkentő hatása az omega-3 és omega-6 zsírsavakkal, illetve a  $\beta$ -glükánokkal történő dúsítás eredménye. Mindezek mellett az elhízás

megelőzésére is rendelkezésre állnak termékek, ezek a boltok polcain egyre nagyobb számban fellelhető csökkentett cukor- és zsírtartalmú készítmények (Csapó et al., 2016).

A funkcionális élelmiszerek körében megjelent egy új fogalom, a „szépségmegőrző élelmiszerek”, melyek lassítják az öregedési folyamatokat, védenek a nap káros hatásai ellen, gátolják a bőr kiszáradását és elősegítik a táplálékok emészthetőségét. A természetes antioxidánsok a szervezet redox-egyensúlyának kialakításához szükségesek, hatástalanítják az oxidatív folyamatokban keletkező igen reaktív szabad gyököket, amelyek felgyorsítják az öregedési folyamatokat és rontják az élettani funkciókat. Az E-vitamin és a karotinoidok a stressz és az öregedés ellen fejtik ki hatásukat, a probiotikumoknak és a növényi rostoknak a bőr fiatalságának megőrzésében és az emésztés serkentésében van nagy szerepük (Bartal, 2015; Csapó et al., 2016).

### **3.1.2. A funkcionális élelmiszerek piaca**

A funkcionális élelmiszerek iránti igény növekedését okozzák a napjaink táplálkozásában elterjedt trendek, az életritmusunk felgyorsulása, melynek következtében gyakorivá vált a sebtében, útközben történő étkezés, a fast-food ételek térhódítása. Elterjedtek a civilizációs betegségek, mint az elhízás, a szív- és érrendszeri, a daganatos és légzőszervi megbetegedések, valamint a cukorbetegség. Hazánk egészségügyi statisztikái alapján Magyarországon az összes halálozás háromnegyed részéért felelősek a szív- és érrendszeri, valamint a rosszindulatú daganatos megbetegedések, melyek a táplálkozással és az életmóddal összefüggésben alakulnak ki (Barcs és Jenes, 2017; Madai, 2008).

A magyar fogyasztók körében még a klasszikus értékek, tehát az élvezeti érték, a kiváló íz fontosabbak, mint az újabb értékek közé sorolható egészségtudatosság, azonban javuló tendencia figyelhető meg hazánk egészségmagatartásában, növekszik az igény és az érdeklődés az egészséges élelmiszerek iránt. Emellett jellemző az árérzékenység is, amely a tudatos táplálkozásra való törekvés ellen hat. Megállapítható továbbá, hogy a termékek nehéz elérhetősége, megkérdőjelezett hitelessége és az ismerethiány akadályozzák a funkcionális élelmiszerek széles körű elterjedését hazánkban (Barcs és Jenes, 2017; Madai, 2008; Szakály et al., 2014).

A tudatosabb fogyasztói magatartás igényeit a funkcionális élelmiszerek képesek kielégíteni. Egyre inkább teret hódítanak az élelmiszerfogyasztás új trendjei, divatosá váltak a laktóz-, glutén-, cukormentes diéták, a csökkentett zsírtartalmú, valamint hozzáadott vitaminokkal dúsított táplálékok. Az élelmiszeriparnak lépést kell tartania, ki kell szolgálnia

a fogyasztók újonnan felmerülő igényeit, hiszen ez sikerességének kulcsa (Barcs és Jenes, 2017).

Nagy hangsúlyt kell fektetni a fogyasztók oktatására és felkészítésére, hiszen nehezen tudatosulnak bennük a táplálkozási előnyök, így szükség van a széles körű tájékoztatásra is. A fogyasztók megfelelő informálása, figyelmének felkeltése a pozitív élettani hatásokra tehát sikeressé tehet egy egészségvédő terméket a piacon (Barcs és Jenes, 2017; Madai, 2008).

### 3.2. Az emberi emésztőrendszer mikrobiótája

Az egészséges gyomor-bél-rendszer a gazdaszervezet mikrobiótájával együttműködő, több mint 400 különböző, leginkább fakultatív és obligát anaerob baktériumfajból álló komplex ökoszisztéma (Pitlik, 2007). Egy felnőtt ember igen állandó és az egyénre jellemző bélmikrobiótáját alkotó baktériumok között állandó és átmeneti fajok is szerepelnek (Csiki, 2008). Az emberi bélrendszer baktérium populációjának 95%-át az obligát anaerob *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Proteus* és *Veilonella* törzsek alkotják. A bélmikrobióta 1-10%-át a fakultatív anaerob *Escherichia coli*, valamint *Klebsiella*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* és *Streptococcus* törzsek építik fel. Aerob mikroorganizmusok a nagyon kis számban megtalálható *Pseudomonas* kivételével nem fordulhatnak elő az egészséges emberek bélcsatornájában. Ellenben a sarjadzó- és fonalgombák közé tartozó élesztő- és penészgombák, például *Candida* fajok megtalálhatók (Pitlik, 2007).

A bélcsatorna baktériumai közül a *Bifidobacterium*-ok, a *Lactobacillus*-ok és a *Streptococcus*-ok egyértelműen hasznosak, illetve az *Eubacterium* és *Enterococcus* nemzetségek tagjai is kedvező szerepet játszanak az immunrendszer működésének fokozása révén a fertőzések elleni védelemben. A többi mikrobacsoport az alkalmilag és a mindig károsak közé sorolható, mely besorolást lényegesen nehezíti, hogy egyes csoportok káros hatásuk mellett hasznos funkciót is betöltenek szervezetünkben. A legjobb példa az *Escherichia* nemzetség, melynek tagjai eseti patogének, rothasztók, toxin- és karcinogénanyag-termelők, gyulladásos folyamatok előidézői, ugyanakkor bizonyos vitaminok, mint például a K-vitamin termelésében és a fertőzések elleni védelemben is aktív szerepet vállalnak (Csapó et al., 2016; Szakály et al., 2004).

Az emésztőrendszer felső szakaszában, a gyomorban és a vékonybélben jellemzően a testi enzimes emésztés folyik, a mikrobaszám  $10^2$ - $10^4$ /g béltartalom között mozog. Az

emésztőrendszer alsó szakaszában, a vastagbélben bakteriális emésztés folyik, a csíraszám már  $10^{12}$ - $10^{14}$ /g béltartalom nagyságrendű és az itt található bélsár tömegének 40-60%-át a mikroorganizmusok adják. A feltüntetett nagy csíraszámokat jól érzékelteti, hogy egy átlagos felnőtt ember testtömegének mintegy 1-1,5 kilogrammját és az összes sejt 95%-át az emésztőrendszer mikrobái teszik ki. Csaknem 8 méter hosszúságú a teljesen kifejlett emésztőcsatorna, amelyben az elfogyasztott táplálék tápanyagtartalmától függően, átlagosan 70 órát tölt (Csapó et al., 2016; Csiki, 2008; Demeter, 2006; Pitlik, 2007; Szakály et al., 2004).

Az egészséges bélmikrobióta többek között biztosítja a szervezet számára szükséges tápanyagok megfelelő felszívódását és a bélnyálkahártya védőgát-funkciójának épségét azáltal, hogy segíti megakadályozni a patogén mikrobák nyálkahártyához történő tapadását és a különféle antigének bejutását, továbbá szerepe van a belek normális anatómiai szerkezetének fenntartásában, valamint segíti az immunrendszer fejlődését és kiegyensúlyozott működését. A béltraktusban és az ahhoz kapcsolódó nyirokcsomókban helyezkedik el az immunrendszer mintegy 70%-a, hiszen a bélrendszer  $400\text{ m}^2$  nagyságú felszínén folyamatosan igen nagyszámban különböző bejutó antigénekkal találkozhat szervezetünk. A bélhez kapcsolódó nyirokszövet tartalmazza az immunrendszerben a B-sejtek csaknem 80%-át (Csiki, 2008; Demeter, 2006; Pitlik, 2007).

A bélmikrobióta baktériumai olyan metabolitokat termelnek, amelyeket a bélhámsejtek fő energiaforrássukként képesek hasznosítani, biztosítva ezzel az emberi szervezet napi energiaszükségletének kb. 10%-át. Néhány baktérium hasznos vitaminokat, K-, B<sub>12</sub>-vitamint és biotint szintetizál, segíti a táplálékkal felvett emészthetetlen és fel nem szívódó poliszacharidok lebontását, valamint a szerves anyagok, a vas, a magnézium és a kalcium felszívódását (Csiki, 2008; Pitlik, 2007).

Nagyon fontos, hogy milyen minőségű táplálékokat fogyasztunk, hiszen a bélben élő baktériumok az elfogyasztott élelmiszerekkel kerülhetnek szervezetünkbe. A rossz minőségű ételek, a túlzott cukor- és alkoholfogyasztás, a gyakori antibiotikum-terápia és a túlzott vegyszeres kezelésnek kitett víz mind felboríthatja a bélmikrobióta egyensúlyát, amely elveszíti képességét arra, hogy kulcsfontosságú feladatait megfelelően ellássa. Az egyensúly helyreállításának legkönnyebb módja a különböző probiotikus készítmények alkalmazása, a szükséges mikroorganizmusok „újratelepítése” (Csiki, 2008; Pitlik, 2007).

## Az emberi bélmikrobióta kialakulása

Születéskor az emberi bélben nem találhatók baktériumok, tehát sterilnek mondható. A magzat első találkozása a baktériumokkal az anyai szülőutakon való áthaladásakor történik, melyek bejutnak az újszülött bélcsatornájába, ahol megtelepednek és szaporodásnak indulnak. Azonban a megtapadó és telepeket képző baktériumok nagyban függenek a szülés módjától, az édesanya saját baktériumbiótájától és a gyermek táplálásától. Azok az újszülöttek, akiket császármetszéssel segítenek a világra és/vagy korai mesterséges táplálásban részesülnek, sokkal kevesebb baktériummal találkoznak, mint a természetes úton, a szülőcsatornán áthaladó, anyatejjel táplált babák, alapját képezve ezáltal az alábbi években kialakult ún. civilizációs betegségeknek, az allergiának és a cukorbetegségnek (Csiki, 2008; Pitlik, 2007).

Természetes szülés esetén az újszülött elsőként az anya lokális baktériumbiótájával találkozik, amely törzsei elhasználják a jelenlévő oxigént, így kialakítva a kezdeti bélbiótát alkotó *Bifidobacterium*-ok és *Lactobacillus*-ok számára az optimális anaerob környezetet. A koraszülött, császármetszéssel világra hozott, mesterségesen táplált, vagy antibiotikummal kezelt csecsemőknél a bélmikrobióta tökéletlen lesz, vagy optimális egyensúlyának kialakulása akár több hetet (2-4 hét) is késhet (Csiki, 2008).

Vizsgálatokat végeztek (Elsen et al., 2019; Guaraldi és Salvatori, 2012), amelyek az anyatejes táplálás számos előnyén túl fényt derítettek a bélbiótára gyakorolt hatására is. Az ilyen módon táplált csecsemőkben a bélbiótát főként *Bifidobacterium*-ok és *Lactobacillus*-ok alkották, azonban a tápszerrel táplált gyermekek esetében inkább vegyes bélmikrobióta alakult ki, amelyben gyakoribb volt a patogén baktériumok előfordulása, többségében *Clostridium*, *Escherichia coli* és *Staphylococcus* volt kimutatható. Az anyatejes táplálás hatására a vastagbélben tehát *Bifidobacterium* és *Lactobacillus* túlsúly alakul ki, amely gátolja a patogén baktériumok elszaporodását, így képes megakadályozni azok méreganyag termelését, emellett pozitív hatással van a gyermekek immunrendszerére és segít megelőzni a fertőző és allergiás betegségek kialakulását (Elsen et al., 2019; Guaraldi és Salvatori, 2012; Pitlik, 2007).

### 3.3. Probiotikumok

Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) 2001-ben született definíciója szerint, a probiotikumok élő mikroorganizmusok, amelyeknek megfelelő módon és mennyiségben fogyasztva jótékony hatásuk van a gazdaszervezet egészségi állapotára (Kumar et al., 2015).

A 20. század utolsó két évtizedére tehető tehát a probiotikumok nevezéktanának kialakulása, a fogalmakat mind megnevezésükben, mind tartalmukban nemzetközileg egységesítették (Csapó et al., 2016; Szakály et al., 2004).

A probiotikumok legnagyobb részben tejsavbaktériumok és bifidobaktériumok. A probiotikus tejsavbaktérium-törzsek közül a legismertebbek legnagyobb része a *Lactobacillus*, kisebb része a *Streptococcus* nemzetséghez tartozik. A tejsavbaktériumok az emberi egészségre jótékony hatású metabolitokat termelnek, azonban nem minden törzs probiotikus (Csapó et al., 2016; Pitlik, 2007; Szakály et al., 2004).

A probiotikus hatású törzsek legfontosabb tulajdonságai a következők:

- Nem kórokozók, alkalmazásuk biztonságos, élő táplálékalkotók
- Ellenállnak a nyál, a gyomorsav, az epe, a hasnyálmirigy és a bélnedvek emésztő enzimeinek, vagyis megtartják életképességüket a gyomor-bél-rendszeren történő áthaladáskor
- Képesek nyálkahártyához és/vagy humán hámsejtekhez tapadni, amely tulajdonságuk a sikeres immunmodulációt biztosítja
- Megőrzik ellenállóképességüket a technológiai folyamatok során, valamint az élelmiszerek minőségmegőrzési idejének tartama alatt
- Antimikrobás anyagokat termelnek potenciálisan kórokozó baktériumok és gombák ellen, valamint csökkentik azok megtapadását a nyálkahártya felszínén
- Az élő szervezetre, annak egészségére gyakorolt hatásuk, vagyis biológiai hatásuk bizonyított (Fijan, 2014; Holzapfel és Schillinger 2002; Kechagia et al., 2013; Pitlik, 2007)

Annak érdekében, hogy a baktériumok a kívánt egészségügyi előnyeket kifejthessék, aktív és életképes formában kell eljutniuk a szervezet megfelelő részébe. Általános megállapodás született tehát a jótékony hatások érvényesülésének biztosítása érdekében, amely szerint legalább  $10^6$ - $10^7$  TKE/ml életképes probiotikus baktériumot kell tartalmazniuk a termékeknek (Kechagia et al., 2013; Vasiljevic és Shah, 2008).

A probiotikus mikroorganizmusok koncentrációja azonban a termékek előállítása, tárolása, szállítása, valamint fogyasztása során bekövetkező stresszhatások következtében csökken, ezen stressz-faktorokat az **1.táblázatban** foglaltam össze (Kechagia et al., 2013; Vasiljevic és Shah, 2008).

**1.táblázat:** A probiotikumok életképességét a feldolgozás során befolyásoló stressz-faktorok (Vasiljevic és Shah, 2008 nyomán)

| Feldolgozási lépés             | Stressz-faktor                                                                                                                                                                                                              |
|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Előkészületek                  | Szerves savak jelenléte a tenyésztés során<br>Koncentráció (nagy ozmotikus nyomás, kis vízaktivitás)<br>Hőmérséklet (fagyasztva szárítás, vákuumszárítás)<br>Hosszan tartó tárolás (oxigén expozíció, ingadozó hőmérséklet) |
| Probiotikus termék előállítása | Tápanyagok kimerülése<br>Törzs antagonizmus<br>Fokozott savasság<br>Pozitív redox-potenciál (oxigén jelenléte)<br>Antimikrobiális vegyületek jelenléte (hidrogén-peroxid, bakteriocinek)<br>Tárolási hőmérséklet            |
| Gasztro-intesztinális tranzit  | Gyomorsav<br>Epesók<br>Mikrobiális antagonizmus                                                                                                                                                                             |

### 3.3.1. A probiotikumok alkalmazása a gyógyításban

A probiotikumoknak nagy szerepe van az egészség megőrzésén túl a betegségek kezelésében is. Bizonyítottan hatékonyak a *Rotavírus*-fertőzés, a *Clostridium difficile* baktérium okozta, valamint az antibiotikus kezelések következtében felbomló baktérium-egyensúly szövődményeként kialakuló hasmenések kezelésében. Hányingerrel, hányással és nagy mennyiségű vizes hasmenéssel járó tünetegyüttes, az „utazók hasmenése” jelentkezik a fejlett országokból a fejlődő országokba utazók 25-50%-ánál, amelyért a leggyakrabban az enterotoxint termelő *Escherichia coli* tehető felelőssé. A fertőzés egyszerűen megelőzhető higiénés rendszabályok és probiotikumok alkalmazásával (Demeter, 2006; Figler et al., 2004; Pitlik, 2007).

Az irritábilis bél szindróma funkcionális, tehát kizárólag a bél működésével kapcsolatos betegség, amelyet legalább három hónapja fennálló, visszatérő hasi fájdalom, görcsök, diszkomfortérzés, puffadás és székelési zavarok jellemeznek. A fertőzéseket követő állapot, valamint a tartós antibiotikum szedés fokozott kockázatot jelentenek a betegség kialakulásában, hiszen ezekben az esetekben kimutatható a bélmikrobióta egyes elemeinek, a *Bifidobacterium* és *Lactobacillus* törzseknek a csökkenése. Kutatások alapján kiderült, hogy a betegek probiotikus kezelése mérsékelte a betegséggel járó tüneteket (Demeter, 2006; Pitlik, 2007; Vasiljevic és Shah, 2008).



A giardiasis, vagyis a *Giardia lamblia* okozta heveny, elhúzódó bélfertőzés is kezelhető probiotikumokkal, amelyek erősítik a giardia-ellenes immunmechanizmusokat, antimikrobás anyagokat termelnek, valamint fokozzák a nyákképződést, elősegítve ezzel a nyálkahártya regenerációját (Fekete et al., 2021). A *Helicobacter pylori* okozta fertőzés gyomornyálkahártya-gyulladást okoz, amely fekélyhajlamot idéz elő. Hosszú távú fertőzés esetén a gyomornyálkahártya elsorvad, megnövelve így a gyomor rosszindulatú daganatos megbetegedésének kockázatát (Demeter, 2006; Pitlik, 2007). Praitano és munkatársai (2012) különböző *Lactobacillus* törzsekkel végzett kísérleteik alapján megállapították, hogy a probiotikumok hasznosak lehetnek a *H. pylori* fertőzés okozta szövődmények megelőzésében, valamint gátolják a patogén megtapadását a gyomorhámsejtek falán, ezáltal csökkentve az újra-fertőződés valószínűségét is.

A hepatikus encefalopátia egy reverzibilis neuropszichiátriai rendellenesség, amely akár akut, akár krónikus májelégtelenségben, és/vagy portosztómás sőtben is megnyilvánulhat. A betegséget komplex kognitív diszfunkció jellemzi. A betegségben szenvedők gyomor-bélrendszeri mikrobiótája a normálistól eltérő összetételű, így fontos ennek módosítása. A betegség kezelésében alkalmazhatók probiotikumok, mivel csökkentik a káros ammónia-termelő baktériumok előfordulását a gyomor-bélrendszerben. Továbbá csökkentik a vér ammóniaszintjét, a bél permeabilitását és javítják a bélhám állapotát (Dalal et al., 2017). Dalal és munkatársai (2017) kísérleteik során megállapították, hogy a placebóval vagy a beavatkozás nélküli kezeléssel összehasonlítva a probiotikumok valószínűleg segítik a felépülést, valamint javítják az életminőséget és a plazma ammónia koncentrációját, azonban mortalitás szempontjából nem, vagy csak igen csekély mértékben jelentettek javulást.

Az allergia egy specifikus antigénre, vagyis allergénre adott immunológiai túlérzékenységi válaszreakció. Az allergénnel történő ismételt érintkezés allergiás mediátorok felszabadulását idézi elő, amely a tüsszögéstől és viszkető kiütésektől kezdve súlyos légszomjhoz és anafilaxiához is vezethet. Az allergiás megbetegedések száma világszerte folyamatosan növekszik, így nagy hangsúlyt helyeznek a kezelési lehetőségek és a megelőzést célzó eljárások bővítésére. Ezen a téren is figyelmet kaptak a probiotikumok, hiszen immunmoduláló szerekként és a gazdaszervezet védekezési útvonalaiként csökkentik a morbiditást. A probiotikumok potenciálisan helyreállíthatják a bél homeosztázisát, valamint annak immunsejtjeivel való kölcsönhatásuk révén megelőzhetik és enyhíthetik a betegséget. A legismertebb allergiás megbetegedések, amelyekben kimutatták a probiotikumok jótékony hatásait, az asztma és a dermatitisz.

*Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsek alkalmazása hasznosnak bizonyult gyermekek esetében is, hiszen csökkentette az allergének okozta hiperreaktivitást és gyulladást, valamint a citokin felszabadulást (Lopez-Santamarina et al., 2021). Enomoto és munkatársai (2014) kimutatták, hogy két *Bifidobacterium* faj fogyasztása születés előtt és után csökkentette a dermatitisz és az ekcéma kialakulásának kockázatát csecsemőkben.

Az emberi populáció több, mint 60%-a szenved laktóztoleranciában, amelyet a csökkent laktáz enzimaktivitás okoz (Oak és Jha, 2019). Oak és Jha (2019) kísérleteik során megállapították, hogy *Bifidobacterium longum* alkalmazása javítja a bélrendszer állapotát, enyhítve ezzel a laktóztoleranciát. Eredményeik arra utalnak, hogy a *B. longum* módosítja a vastagbél mikrobiótájának mennyiségét és metabolikus aktivitását, valamint enyhíti a betegség tüneteit.

### 3.3.2. A *Bifidobacterium* nemzetség

Henri Tissier izolált elsőként bifidobaktérium fajt 1899-ben, anyatejjel táplált újszülött székletmintájából. A sejteket *Bacillus bifidus*-nak nevezte. Tissier eredeti izolátumát ma *Bifidobacterium bifidum* TI. néven említik. A *Bifidus* latin szó jelentése hasadt vagy kettéosztott, amely korlátozott tápanyagforrások mellett a sejtek jellegzetes töredezett végeire utal. A *Bifidobacterium* nemzetség elnevezés eredetileg 1924-ből, Orla Jensentől származik. A bifidobaktériumok az Actinobacteria törzsbe és az Actinomycetales rendbe sorolhatók és jellemzően magas guanin-citozin tartalommal rendelkeznek (Alessandri et al., 2021; Deák et al., 2006; Hoover et al., 2014).

Jellemzőek a különféle pálca formák, rövid, szabályos, vékony sejtek, valamint enyhén kettéágazó, csillagszerű halmazokba, vagy „V” alakba rendeződött elemek. A Gram-pozitív sejtek általában kataláz negatívak, nem spóráképzők és nem motilisak. Az agaron a telepek felszíne sima, konvex kiemelkedésű, szegélyük ép, krémfehér színűek, csillogóak és lágy konzisztenciájúak. Oxigénigényüket tekintve obligát anaerobok, azonban egyes fajok aerotoleránsak, toleranciájuk mértéke a faj és az alkalmazott tápközeg függvénye. Optimális növekedési hőmérsékletük 37-41°C között van (min: 25-28°C, max: 43-45°C). A kezdeti növekedésükhöz szükséges optimális pH érték 6,5-7,0, nem tapasztalható növekedés 4,5-5,0 vagy 8,0-8,5 pH értékek között. Szacharolitikus baktériumok, az erjedés a foszfoketolázos biokémiai úton folyik. A katabolizmus eredményeként, szén-dioxid képződése nélkül, 3:2 molarányban keletkezik esetsav és tejsav (Deák et al., 2006; Hoover et al., 2014; Tamura, 1983).

A bifidobaktériumok számos hasonló tulajdonsággal rendelkeznek, mint a laktobacillusok. Megkülönböztetésükben segítséget jelent, hogy a bifidobaktériumok kevésbé savtűrőek, a szénhidrátok fermentálásával ecetsavat nagyobb arányban termelnek, mint tejsavat, valamint kulcsfontosságú, hogy a laktobacillusokkal ellentétben, rendelkeznek fruktóz-6-foszfát-foszfoketoláz enzimmel, amely a hexóz-foszfátot eritróz-4-foszfáttá és acetil-foszfáttá alakítja (Hoover et al., 2014).

Bifidobaktériumok tenyésztésekor fontos az anaerob környezet biztosítása, ennek megfelelően redukáló ágensek, például aszkorbinsav, tioglikolát, vagy cisztein adagolható a tápközegbe az optimális növekedés érdekében. Az esszenciális aminosavak közül a cisztein és a cisztin szükségesek a növekedésükhöz. Nitrogénforrásként ammóniumsók, szénforrásként glükóz, galaktóz, laktóz, laktulóz, oligoszacharidok, a keményítőhidrolízis termékei és szén-dioxid alkalmazhatók. Szükséges nyomelemek a vas, a magnézium és a mangán. Általában az emberi eredetű bifidobaktériumok növekedésükhöz B-vitaminokat igényelnek, amelyeket élesztőkivonat alkalmazásával fedezhetünk, emellett néhány törzs nagy mennyiségben képes B<sub>6</sub>-, B<sub>9</sub>- és B<sub>12</sub>-vitamint szintetizálni (Hoover et al., 2014; Tamura, 1983).

Bifidobaktériumokat izoláltak már többek között emberi vérből, szájüregből, szennyvízből, erjesztett vagy nyerstejből, madarak és rovarok bélrendszeréből, azonban jelenleg a jellemzett bifidobaktériumok többsége az ember és más emlősök béltraktusából eredeztethető (Alessandri et al., 2021).

Kimutatták, hogy a bifidobaktériumok aktiválják az immunológiai, antibakteriális és antitumor hatásokat állatokban, emellett metabolikus aktivitásuk révén nem keletkezik ammónia, esetleg egyéb káros vegyületek, például putreszcin vagy kadaverin. Ennek eredményeként nem valósul meg a nitrát nitritté redukálása, amely kellemetlen szagú és potenciálisan karcinogén nitrózaminok keletkezéséhez vezethet. Savtermelésük csökkenti a széklet pH-ját, ezáltal a patogén baktériumok előfordulását, így a toxikus metabolitok szintjét, amely számos előnyt jelent a szervezet számára, segíti a kalcium felszívódását, a hasmenéses megbetegedések és a székrekedés megelőzését, csökkenti a vérnyomást, a vérszérum koleszterinszintjét, továbbá védi a májfunkciókat és enyhíti a laktóztoleranciát (Hoover et al., 2014).

A probiotikus élelmiszerekben leggyakrabban alkalmazott bifidobaktérium fajok a *B. lactis*, a *B. longum*, a *B. bifidum*, a *B. breve* és a *B. infantis* (Maurya et al., 2021). A *B. lactis* előnyös tulajdonságai közé tartozik, hogy semlegesíti a gliadint, azt a búzafehérjét, amely a lisztérzékenyséért felelős és károsítja a bélnyálkahártyát. A *B. longum* megakadályozza a

patogének növekedését, csökkenti a gyomor-bélrendszeri problémák gyakoriságát és az antibiotikumkúra során fellépő hányingert, továbbá allergiaellenes hatásairól is beszámoltak (Maurya et al., 2021; Oak és Jha, 2019).

### 3.4. Prebiotikumok

A prebiotikumok olyan élelmiszer összetevők, melyek szelektíven támogatják a bélben lévő jótékony hatású mikroorganizmusok szaporodását és aktivitását. Prebiotikumok lehetnek fehérjék, lipidek, azonban többnyire 2-9 egyszerű cukormolekulából felépülő oligoszacharidok. A szájüregben és a gyomor-bélcsatornában lévő enzimek nem metabolizálják őket, így emésztetlenül jutnak a vastagbélbe, ahol serkentik a bél mikrobiótáját alkotó jótékony hatású mikroorganizmusok szaporodását, szelektíven táplálják a *Bifidobacterium*-okat és a *Lactobacillus*-okat, ezáltal gátolják a patogén kórokozók megtelepedését (Csapó et al., 2016; Csiki, 2008; Pitlik, 2007; Polgár et al., 2004; Pop et al., 2019).

A prebiotikumokat meghatározó definíció szerint az alábbi tulajdonságokkal kell rendelkezniük:

- A gyomor-bélcsatorna első, proximális szakaszában nem hidrolizálódhatnak és nem szívódhatnak fel
- Szelektív szubsztrátumai egy vagy több, a vastagbélben megtalálható potenciálisan jótékony baktériumnak, valamint stimulálják azok szaporodását és/vagy metabolikus aktivitását, a kedvezőtlen mikrobák gátlása mellett, ezáltal védő hatás tulajdonítható nekik
- A vastagbél mikrobiótáját az egészségesebb összetétel irányába változtatják, a gazdaszervezet számára előnyös hatásokat fejtenek ki és a vizelettel ürülnek (Csiki, 2008; Holzapfel és Schillinger, 2002; Mohanty et al., 2018).

A fent felsorolt kedvező hatások mellett a prebiotikumok hozzájárulnak a bél immunológiai homeosztázisának kialakulásához, enyhítik az „utazók hasmenését”, szerepet játszanak a kardiovaszkuláris betegségek, a tumorok és az allergiás megbetegedések kialakulásának megelőzésében (Csiki, 2008; Polgár et al., 2004).

Prebiotikumként a leggyakrabban alkalmazott oligoszacharidok a frukto-oligoszacharidok, valamint az inulinok, amelyek a *Bifidobacterium*-ok szaporodását segítik elő a vastagbélben; az izomalto-oligoszacharidok, amelyek egyaránt serkentik a *Bifidobacterium*-ok és a *Lactobacillus*-ok növekedését; és a galakto-oligoszacharidok,

amelyek kis mennyiségben az anyatejben fordulnak elő, így csecsemőtápszerek készítése során alkalmazhatók (Pitlik, 2007).

Természetes állapotban számos élelmiszerben megtalálhatók, gazdag forrásai a csicsóka és a cikóriagyökér, valamint a vöröshagyma, a fokhagyma, a póréhagyma, az articsóka, a búza, a zabpehely, a banán, a tej és az érett sajtok többsége is tartalmaz prebiotikumokat (Csapó et al., 2016; Pitlik, 2007; Polgár et al., 2004).

### 3.5. Szinbiotikumok

Szinbiotikumoknak nevezzük azokat az élelmiszereket, amelyek mind prebiotikumokat, mind probiotikumokat tartalmaznak. A termékben található probiotikus baktériumok béltraktusban történő növekedését és túlélését segítik elő a hozzáadott prebiotikumok. A pre- és prebiotikumok szinergizmusa révén kedvező élettani hatásaik egyesülnek és fokozódnak. A szinbiotikumok tehát nélkülözhetetlenek a bélrendszer megfelelő egészségéhez és a betegségek, valamint az azokhoz fűződő kockázatok csökkentéséhez (Csapó et al., 2016; Holzapfel és Schillinger, 2002; Mohanty et al., 2018; Polgár et al., 2019; Pop et al., 2019).

A csecsemők számára a legjobb szinbiotikus táplálék az anyatej, amelyben oligoszacharidok és tejsavbaktériumok is megtalálhatók, biztosítva ezzel mind a pre-, mind a probiotikumok együttes jelenlétét, amely számos egészségügyi előnyt jelent az anyatejjel táplált gyermekeknek (Mohanty et al., 2018).

Szinbiotikus terméket, szilvalevet állítottak elő különböző probiotikumok (*Lactobacillus kefiranofaciens*) és oligoszacharidok felhasználásával, amely termék antibakteriális aktivitást mutatott hasmenést okozó patogénekkal, így az *E. coli*-val és a *Vibrio cholerae*-vel szemben. Az akut vizes hasmenésben szenvedő betegek esetében hatásosnak bizonyultak azok a készítmények, amelyek *Bifidobacterium longum* és *Bifidobacterium bifidum* törzsek mellett frukto-oligoszacharidokat tartalmaztak (Mohanty et al., 2018).

A szinbiotikumok továbbá hasznosak lehetnek gyermekek allergiás betegségeinek, valamint a szisztémás fertőzések csökkentésében, így a megfázás, torokgyulladás, influenza és a légúti fertőzések kezelésében (Mohanty et al., 2018).

### 3.6. A gyümölcs alapú funkcionális élelmiszerek

A probiotikus termékek globális piacát jelenleg a tej alapú készítmények uralják, azonban a nagy mennyiségben jelenlévő allergének, koleszterin és zsírok, a világ népességének ~65%-át érintő laktózi intolerancia, valamint a vegánizmus gyors terjedése a fogyasztók

körében alternatívák keresésére ad okot (Lillo-Pérez et al., 2021). Mindezek mellett a vegetáriánus, az állati és a környezetvédelmi aktivizmus is arra készítette a vállalatokat, hogy tejmentes és vegán alapú termékeket dobjanak piacra. Az utóbbi években egyre növekszik a kereslet a növényi, zöldség és gyümölcs alapú probiotikus termékekre is (Mojikon et al., 2022; Plessas, 2022).

A gyümölcsöknek számos jótékony hatása van az emberek egészségére, hiszen gazdagok különféle vitaminokban, antioxidánsokban, rostokban és ásványi anyagokban. Mindezek mellett fermentálható cukrok széles skáláját tartalmazzák, ilyenek többek között a glükóz, a fruktóz, a galaktóz és a szacharóz, amelyeket a probiotikumok kiválóan képesek hasznosítani a fermentáció során, valamint rosttartalmuk prebiotikumként segíti a baktériumok anyagcseréjét. Ezen tulajdonságaik miatt ideális tápközegeként szolgálnak a probiotikumoknak. Nem elhanyagolható szempont továbbá, hogy a gyümölcsök általános megítélése és ízprofilja minden korosztály számára tetszetős, valamint jellemzően nem tartalmaznak allergiát kiváltó összetevőket. Az Egészségügyi Világszervezet (WHO), valamint az Élelmezésügyi és Mezőgazdasági Szervezet (FAO) is meghatározott ajánlott napi gyümölcs-beviteli mennyiséget annak érdekében, hogy olyan krónikus betegségek, mint a magas vérnyomás, a szívkoszorúér-problémák és a stroke kialakulása megelőzhető legyen (Bujna et al., 2018; Havas et al., 2014; Mojikon et al., 2022; Panghal et al., 2018).

Világszerte, széles választékban megtalálhatók hagyományos, nem tej alapú fermentált italok. Sok közülük alkoholmentes és fő nyersanyagaként gabonaféléket tartalmaz, azonban gyümölcs és zöldség alapú italok is készülnek (Vasudha és Mishra, 2013). Különbféle gyümölcsleveket használtak már szubsztrátumként probiotikus készítmény előállításához, ilyenek például az ananász, a barack, az áfonya, az eper, a mangó, a szőlő, az alma és a narancs (Aspri et al., 2020).

Számos növényi és gyümölcs alapú probiotikus ital érhető el az európai piacon kereskedelmi forgalomban. Ilyen például az aromás fűszer-, valamint egyéb növények keverékéből készült, tejsavbaktériumok és élesztők kombinációjával erjesztett Vita Biosa<sup>®</sup>, amely feketeribizli és áfonya ízesítésben is elérhető a dán piacon Vita Biosa Berry néven. A *L. plantarum* 299v törzset tartalmazó Proviva<sup>®</sup> gyümölcslevek számos kiegészítésben és ízesítésben elérhetők a svéd piacon. A hozzáadott cukrot nem tartalmazó, 78%-os gyümölcstartalmú italok narancs, áfonya, mangó, valamint narancs-homoktövis-kurkuma ízesítésben érhető el. A hozzáadott cukrot tartalmazó termékek 35%-os gyümölcstartalommal rendelkeznek és mangó, feketeribizli, málna-gránátalma, valamint trópusi ízekben kaphatók. A márkanév alatt található továbbá szénhidrátcsökkentett italok

is, azonban ezek pusztán 30%-os gyümölcstartalommal rendelkeznek. Termékeik közös tulajdonsága, hogy zabliszt hozzáadásával készülnek. (Internet 1.; Internet 2.; Nazir et al., 2019).

### **3.6.1. Gyümölcsök bioaktív komponensei**

A gyümölcsökben megtalálható bioaktív vegyületek fogyasztása egészségügyi előnyökkel jár, kedvező hatást fejtenek ki az immun-, a szív- és ér-, valamint a gyomor-bélrendszerre. Ezeket kiaknázva az élelmiszeripar képes új funkcionális élelmiszerek fejlesztésére, valamint az elérhető termékek tápértékének javítására, ezáltal hozzájárulva a fogyasztók bélmikrobiótájának egyensúlyához és egészségéhez (Borgonovi et al., 2022).

A gyümölcsökben viszonylag nagy mennyiségben akumulálódhatnak fitokemikáliák. Ezek a másodlagos metabolitok bioaktív vegyületek, támogatják a gyümölcsök alkalmazkodását különböző környezeti tényezőkhez, valamint egészségügyi előnyeik miatt funkcionális élelmiszerforrásként ajánlott hatóanyagok. Közéjük tartoznak a fenolok, az élelmi rostok, az illóolajok és terpenoidok, a karotinoidok, valamint egyéb vegyületek, például vitaminok. Felhasználhatók a szabad gyökök és a krónikus betegségekkel összefüggő oxidatív károsodások ellen. Az emberi szervezetre gyakorolt kedvező hatásai mellett, a fitokemikáliák felelősek a gyümölcs színéért, ízéért és illatáért (Cai, 2019; Septembre-Malaterre et al., 2018).

A fenolok számos gyümölcs, mint például a szőlő, az alma és a narancs fő hatóanyagai. Az étrendünkben szereplő leggyakoribb antioxidánsok is fenolok és karotinoidok. Bioaktív vegyületekként szívvédő és gyulladáscsökkentő hatásuk mellett védenek az oxidatív stressz káros hatásaitól. A polifenolok közé tartoznak a fenolsavak és a flavonoidok (Cai, 2019; Septembre-Malaterre et al., 2018).

Trowell (1978) definíciója szerint, az élelmi rostok olyan növényi sejtek maradványaiból állnak, amelyek ellenállnak a hidrolízisnek (emésztésnek). Összetevői a cellulóz, hemicellulóz, lignin, oligoszacharidok, pektinek, gumik és viaszok. Számos jótékony hatással rendelkeznek, növelik a széklet térfogatát, csökkentik a bélben történő áthaladás idejét, a koleszterinszintet, valamint a glikémiás indexet és serkentik a bélmikrobióta szaporodását (Cai, 2019; Trowell, 1978).

Az illóolajok összetett, lipofil aromavegyületek. Antimikrobás, gyulladáscsökkentő, fájdalomcsillapító, nyugtató és görcsoldó hatásai mellett, javítják az élelmiszerek ízét. Fő hatóanyagaik a terpenoidok, köztük is a legfontosabb aromás komponensek a mono- és szeszkviterpenoidok. Az aszkorbinsav vagy C-vitamin fontos antioxidáns, nagy

mennyiségben megtalálható a citrusfélékben, az eperben és a kiviben. Számos bioszintetikus enzim kofaktora, amelyek nélkülözhetetlenek aminosav-eredetű makromolekulák, neurotranszmitterek, neuropeptidek szintéziséhez (Cai, 2019).

Mindezek mellett a növények antinutritív anyagokat is szintetizálnak, hogy megvédjék magukat különféle támadásokkal, rovarokkal, kórokozókkal szemben. Ezek a vegyületek káros hatással lehetnek a fogyasztókra és negatívan befolyásolják az élelmiszer minőségét, ugyanakkor kórokozó mikroorganizmusok ellen is alkalmazhatók (Septembre-Malaterre et al., 2018).

### **3.6.2. Probiotikus fermentált gyümölcslevek**

A tejsavas erjesztés könnyű és alkalmas módja a zöldségek és gyümölcsök napi fogyasztásának növelésére, valamint az egyik legrégebbi technika a romlandó élelmiszerek eltarthatóságának meghosszabbítására. Gyakran az erjedés spontán következik be, s az ilyen módon előállított termék szorosan köthető számos ország hagyományaihoz és kultúrájához (Di Cagno et al., 2013; Rodríguez et al., 2021).

A tejsavas erjesztés egyszerű, költséghatékony és fenntartható technológia a nyersanyagok táplálkozási és érzékszervi tulajdonságainak fenntartására és javítására. A probiotikus törzsek felhasználásával történő erjesztés javíthatja a termék aroma- és ízprofilját, emellett növelheti a tápértékét és az eltarthatóságát, mivel a baktériumok lebontják az erjeszthető cukrokat és antimikrobiális hatású szerves savakat termelnek, amelyek hozzájárulnak az élelmiszerbiztonság megőrzéséhez is (Mojikon et al., 2022; Rodríguez et al., 2021).

A tejsavas erjesztés módosítja a fermentált anyagok összetételét és a mikroorganizmusok metabolikus aktivitása révén javítja az ételek egészségügyi előnyeit. Az élelmiszerek funkcionális tulajdonságainak javulása számos mechanizmus eredménye:

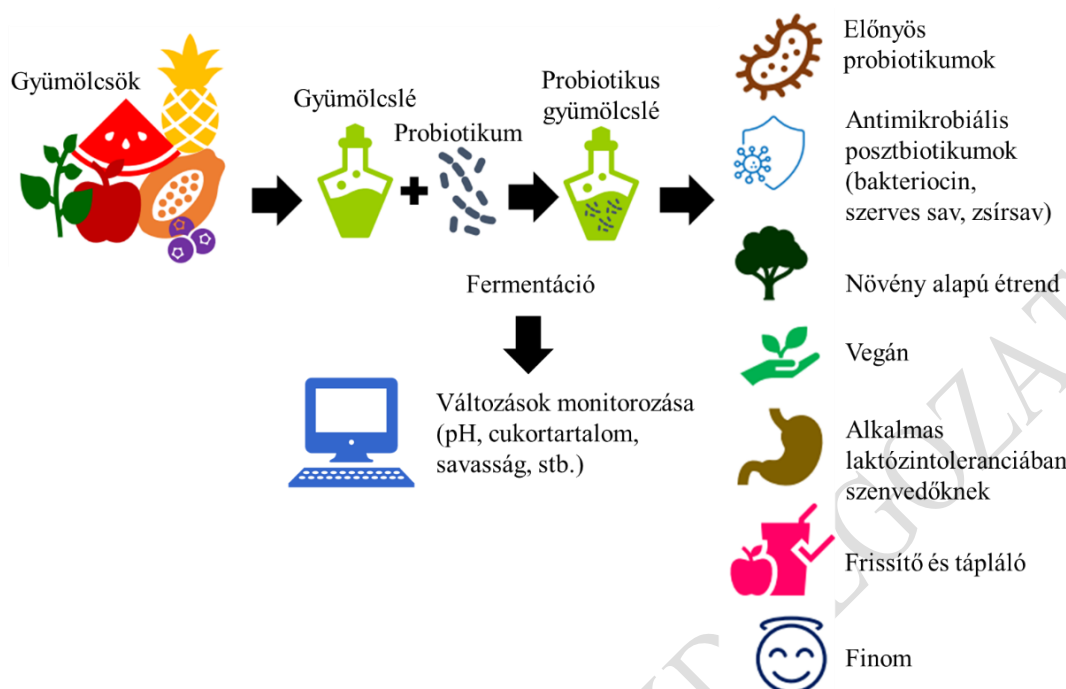
- Antinutritív anyagok eliminációja.
- Pozitív hatású metabolitok termelése (bioaktív peptidek, exopoliszacharidok).
- Biológiai hozzáférhetőség javítása polimerek hidrolízisével.
- Vitaminok, ásványi anyagok és fenolvegyületek megnövekedett mennyisége.

A fent felsorolt mechanizmusok eredményeképpen a termék antioxidáns hatása megnő, valamint a bioaktív vegyületek bélrendszerből történő felszívódására is kedvezően hatnak (Septembre-Malaterre et al., 2018).

A fermentált gyümölcslevek egészségügyi előnyei annak tulajdoníthatók, hogy a növényekben található bioaktív komponensek, a fitokemikáliák nagyobb mennyiségben



vannak jelen, mint a nem erjesztett készítményekben (Plessas, 2022). A fermentált gyümölcslevek készítését és előnyeit az **1.ábra** foglalja össze.



**1.ábra:** Fermentált gyümölcslevek készítése és előnye (Mojikon et al., 2022 nyomán)

Az utóbbi években számos vizsgálat irányult gyümölcs és zöldség alapú probiotikus élelmiszerek fejlesztésére.

Nguyen és munkatársai 2019-ben végzett kísérleteik során megállapították, hogy az ananász önmagában is alkalmas szubsztrát probiotikus *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsek szaporodásához. Megfogalmazták továbbá, hogy az erjesztett italok jellemzői erősen függenek a fermentálható cukrok spektrumától, a nitrogéntartalomtól, valamint az alkalmazott probiotikus törzsektől. A fermentációs folyamat során a prebiotikus frukto-oligoszacharidokkal történő kiegészítés növelte a *Bifidobacterium*-ok tejsav termelését, valamint javította a probiotikus sejtek stabilitását. Probiotikus ananászlevek készítéséhez a kísérleteik során, sejtszámokat és savtermelést tekintve legjobb eredményeket produkáló *Lactiplantibacillus plantarum* 299v törzset ajánlják.

A sárgabaracklé is alkalmazható mindenféle tápanyag-kiegészítés nélkül szubsztrátként probiotikus *Lactobacillus*-ok és *Bifidobacterium*-ok szaporodásához. Vegyes kultúrákat alkalmazva a probiotikus baktériumsejtek szaporodásának mértéke növelhető, azonban ez kedvezőtlenül befolyásolja a tejsav : ecetsav molarányokat (Bujna et al., 2018).

Havas és munkatársai (2014) vizsgálataik során megállapították, hogy a narancs-, a sárgarépa- és a paradicsomlé megfelelő tápközegként szolgál *Bifidobacterium*-ok

tenyésztéséhez. A vizsgált gyümölcs- és zöldséglevelekben a *Bifidobacterium longum* Bb-46 törzs mutatta a legjobb növekedést.

*Bifidobacterium longum* NCIMB 8809 törzs életképességét vizsgálták modelloldatokban Nuallkaekul és munkatársai (2011). Megállapították, hogy a magas, 4,0-4,6-os pH-érték, valamint a citromsav, fehérje és élelmi rost kiegészítés növeli a sejtek túlélését hűtött tárolás során. Matematikai modelljük képes megfelelően megjósolni a sejtek túlélését narancs-, grapefruit-, feketeribizli- és ananászlevelekben, azonban gránátalma- és eperlevelekben nem. Utóbbi két esetben a sejtek életképessége igen gyorsan csökkent, amelyet az ezekben a levelekben található fenolvegyületek magas szintjének tulajdonítottak.

A bifidobaktériumok életképességének növelését célozták Saarela és munkatársai (2011). Kísérleteik során megállapították, hogy a *Bifidobacterium breve* 99 UV-mutagenézise savas tápközegben történő inkubálással kombinálva javíthatja a törzs savakkal szembeni toleranciáját és stabilitását az alacsony pH-jú gyümölcslevelekben. Továbbá zabrost hozzáadásával is jelentős mértékben javították a stabilitást.

### 3.6.3. Kihívások, lehetőségek

Annak ellenére, hogy a gyümölcslevek, alapvető tápanyagtartalmuk miatt ígéretes szubsztrátnak tűnnek a probiotikus baktériumok számára, felmerültek aggályok a probiotikumok életképességét és a termék érzékszervi jellemzőire gyakorolt negatív hatásait tekintve (Plessas, 2022). Van néhány tényező, amely korlátozhatja a probiotikumok túlélését, ezek három csoportba sorolhatók.

1. Élelmiszer paraméterek: pH, titrálható savtartalom, molekuláris oxigén, vízkaktivitás, só jelenléte, cukor és vegyi anyagok (hidrogén-peroxid, bakteriocinek, mesterséges íz- és színanyagok)
2. Feldolgozási paraméterek: hőkezelés, inkubációs hőmérséklet, hűtési sebesség, csomagolóanyagok, tárolás módja, oxigénszint, térfogat
3. Mikrobiológiai paraméterek: probiotikus törzsek, beoltás mértéke és aránya (Perricone et al., 2015).

A fent felsorolt tényezők közül, a pH a legfontosabb. A gyümölcslevek pH-ja alacsony, míg szerves sav tartalma magas. A felhalmozódott szerves savak és azok antimikrobás aktivitása hatással van a probiotikumok túlélésére (Patel, 2017).

Ahhoz, hogy a probiotikumok kifejthessék egészségügyi hatásait, képesnek kell lenniük megtelepedni és szaporodni a fogyasztó bélrendszerében. Amennyiben nem megfelelő számú életképes baktérium jut el a célhelyre, a termék hatástalan (Aspri et al.,

2020). Azonban napjainkban egyre több vizsgálat irányul a posztbiotikumokra, amely kifejezés olyan élettelen mikroorganizmusokra és/vagy összetevőikre utal, amelyeknek kedvező egészségügyi hatások tulajdoníthatók (Vinderola et al., 2022).

Számos tanulmány (Terpou et al., 2019; Vasiljevic és Shah, 2008) számol be arról, hogy a feldolgozás, tárolás és fogyasztás során a baktériumok életképessége jelentősen csökken. Ebből kifolyólag, jelenleg a legnagyobb kihívás az életképesség fenntartása a probiotikus termékekben. A WHO/FAO kritériuma alapján egy probiotikus termék legalább  $10^6$ - $10^7$  TKE/ml életképes probiotikus baktériumot kell tartalmazzon (Aspri et al., 2020).

Számos sikeres stratégia született a probiotikumok túlélésének javítására:

- Dúsítás prebiotikumokkal (élelmi rostok, cellulóz stb.)
- Alkalmazkodás és ellenállás kiváltása: több szerző szerint (Perricone et al., 2014; Saarela et al., 2011), ha a törzseket szubletális stressznek teszik ki, az egyfajta ellenállást és adaptív stresszválaszt okozhat
- Hűtve tárolás és antioxidánsok alkalmazása: a csomagolt termékekben a lehető legkevesebb oxigén legyen jelen a probiotikumok oxidatív károsodásának elkerülése érdekében
- Mikrokapszulázás: sikeresen védi a probiotikumokat a külső környezet káros hatásaitól (Patel, 2017; Perricone et al., 2015; Saarela et al., 2011).

A probiotikumok életképességének fenntartása mellett nagy kihívás a termékek elfogadtatása a fogyasztókkal. A felhasznált törzsek és gyümölcslevek, a tárolás, valamint egyéb vegyületek hozzáadása befolyásolja a késztermék érzékszervi tulajdonságait. Kellemes illatú, illékony összetevők hozzáadása „elfedheti” a probiotikumok jelenlétét (Panghal et al., 2018; Patel, 2017; Perricone et al., 2015).

## 4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

### 4.1. Felhasznált mikroorganizmusok

Kísérleteim során a **2.táblázatban** foglalt probiotikus *Bifidobacterium* törzseket alkalmaztam.

**2.táblázat:** Alkalmazott *Bifidobacterium* törzsek

| Törzs                                                | Eredet           |
|------------------------------------------------------|------------------|
| <i>Bifidobacterium lactis</i> Lafti <sup>R</sup> B94 | Lallemand Health |
| <i>Bifidobacterium lactis</i> Bb-12                  | Chr. Hansen      |
| <i>Bifidobacterium longum</i> DSM 16603              | Probiotal S.p.A. |

A törzseket folyadéktenyészet formájában, TPY táplevesben tartottam fenn. Az inkubálást 37°C hőmérsékleten végeztem 24 óráig, a tenyésztés során az anaerob körülményeket Jar segítségével biztosítottam. A kísérletek során a törzseket többször átoltottam, majd ismételt inkubáltam.

### 4.2. Tápközegek

#### 4.2.1. Laboratóriumi tápközegek

TPY (Trypticase-Phytone-Yeast extract) tápleves

A *Bifidobacterium* törzsek fenntartásához és szaporításához TPY táplevest alkalmaztam, amelynek elkészítéséhez a **3.táblázatban** foglalt összetevőket táramérleg segítségével összemértem, majd mágneses keverővel homogenizáltam. Az így elkészült táplevest lombikokba és kémcsövekbe mérést követően autoklávban 121°C-on, 15 percig sterilizáltam.

**3.táblázat:** TPY tápleves összetétele

| Összetevő                            | Mennyiség |
|--------------------------------------|-----------|
| Trypticase pepton                    | 10 g      |
| Phytone pepton                       | 5 g       |
| Glükóz                               | 5 g       |
| Élesztőkivonat                       | 2,5 g     |
| Tween 80                             | 1 ml      |
| Cisztein-HCl                         | 0,5 g     |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>      | 2 g       |
| MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O | 0,5 g     |
| ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O  | 0,25 g    |
| CaCl <sub>2</sub>                    | 0,15 g    |
| FeCl <sub>3</sub>                    | 0,03 g    |
| Desztillált víz                      | 1000 ml   |

#### TPY (Trypticase-Phytone-Yeast extract) agar

Összetétele megegyezik a **3.táblázatban** foglaltakkal, amelyet 15 g agar-aggarral egészítettem ki.

#### Fiziológiás sóoldat

A sejtszámmeghatározáskor alkalmazott hígítási sor elkészítéséhez szükséges fiziológiás sóoldathoz 8,5 g NaCl-ot oldottam fel 1000 ml desztillált vízben. Az így elkészült oldatot 4,5 ml-enként kémcsövekbe pipettáztam, majd autoklávban 121°C-on, 15 percig steriliztem.

### **4.2.2. Gyümölcs alapú tápközeg**

Kísérleteim során három, a kereskedelmi forgalomban kapható gyümölcslevet használtam fel: Hey-ho 25%-os szilvalevet, Solevita 100%-os almalevet és Happy Fruits 50%-os meggylevet. A vegyes gyümölcs alapú tápközeg elkészítéséhez az említett gyümölcsleveket 1:1:1 arányban kevertem össze. A keverék pH mérésekor savas, pH 3,6 körüli értéket tapasztaltam, így annak érdekében, hogy a baktériumok megfelelő szaporodását biztosítani tudjam, szükség volt a vegyes lé pH állítására, amelyhez steril 4 N-  
os NaOH-t alkalmaztam.

A **4., 5. és 6. táblázatban** a felhasznált gyümölcslevek beltartalmi értékeit foglaltam össze.



**4.táblázat:** Szilvalé összetétele (Internet 3.)

| Tápanyagok                  | 100 ml átlagosan tartalmaz |
|-----------------------------|----------------------------|
| Energiatartalom             | 139 kJ / 33 kcal           |
| Zsír                        | 0,1 g                      |
| amelyből telített zsírsavak | <0,1 g                     |
| Szénhidrát                  | 7,4 g                      |
| amelyből cukrok             | 6,9 g                      |
| Fehérje                     | 0,2 g                      |
| Só                          | 0,05 g                     |



**5.táblázat:** Almale összetétele (Internet 4.)

| Tápanyagok                  | 100 ml átlagosan tartalmaz |
|-----------------------------|----------------------------|
| Energiatartalom             | 190 kJ / 45 kcal           |
| Zsír                        | 0,1 g                      |
| amelyből telített zsírsavak | <0,1 g                     |
| Szénhidrát                  | 10,5 g                     |
| amelyből cukrok             | 10,0 g                     |
| Fehérje                     | 0,1 g                      |
| Só                          | <0,01 g                    |



**6.táblázat:** Meggylé összetétele (Internet 5.)

| Tápanyagok                  | 100 ml átlagosan tartalmaz |
|-----------------------------|----------------------------|
| Energiatartalom             | 247 kJ / 58 kcal           |
| Zsír                        | 0,5 g                      |
| amelyből telített zsírsavak | 0,1 g                      |
| Szénhidrát                  | 14 g                       |
| amelyből cukrok             | 13 g                       |
| Fehérje                     | 0,5 g                      |
| Só                          | 0,01 g                     |

### 4.3. Alkalmazott prebiotikum

A tolerancia vizsgálat, valamint a tárolási kísérletek során Raftilin frukto-oligoszacharidot alkalmaztam, amelyet a gyümölcslé fermentációkat követően adagoltam a megfelelő mintákhoz. A prebiotikum végkoncentrációja a gyümölcslevekben 1%-os volt.

### 4.4. Fermentáció során végzett vizsgálatok

#### 4.4.1. Fermentáció körülményei

A gyümölcsleveket a pH állítást követően 30 ml-enként osztottam szét 100 ml-es üvegekbe. A gyümölcslé fermentációkat 1%-os és 5%-os 24 órás TPY táplevesben felszaporított inokulum tenyészzettel indítottam, majd az inkubáció során meghatározott időközönkénti mintavételt követően elvégeztem a tervezett méréseket.

Az inkubáció hőmérséklete 37°C volt, a *Bifidobacterium*-ok megfelelő szaporodásához szükséges anaerob körülményeket Jar használatával biztosítottam, amelyben az oxigén elvonása égetéssel történt.

#### 4.4.2. pH mérés

Kísérleteim során mintáim pH értékének meghatározására Mettler Toledo SevenMulti<sup>TM</sup> készüléket alkalmaztam a megfelelő kalibráló oldatok segítségével elvégzett, kétpontos kalibrálást követően.

#### 4.4.3. Élőcsíraszám meghatározása

Kísérleteim során a fermentált gyümölcslevekből meghatározott időközönként mintákat vettem, amelyekből azután decimális hígítási sort készítettem. 0,5 ml mintát vortexelést követően 4,5 ml steril fiziológiás sóoldathoz pipettáztam, majd az így kapott hígítási tag

felhasználásával készítettem a következőt. Addig végeztem ezeket a műveleteket, míg el nem értem a kívánt hígítást.

A megfelelő hígítási tagokból vortexelést követően 50 µl-t pipettáztam Petri csészékbe, majd felöntöttem TPY tápaggarral. Ezután óvatos körkörös mozdulatokkal homogenizáltam a csészék tartalmát. A tápagar dermedését követően a csészéket fejjel lefelé fordítva anaerob körülményeket biztosító Jarba helyeztem, amelyet 37°C-os termosztátszekrénybe tettem és legalább 48 órát inkubáltam. Az inkubációs idő letelte után az egyes csészékben leszámoltam a kinőtt telepeket, majd az élőcsíraszámot TKE/ml egységben adtam meg.

## **4.5. Tolerancia vizsgálat gyomorsav és epesav esetén**

A tolerancia vizsgálat során 5%-os inokulum tenyésztettel dolgoztam és három beállítást készítettem, amelyek a következők: TPY táplevesben felszaporított mikroba, vegyes gyümölcslemben felszaporított mikroba, valamint a fermentált gyümölcsle prebiotikummal kiegészített változata.

### **4.5.1. Gyomorsavat modellező oldat**

A gyomor fázis modellező oldathoz 5 g/l-es NaCl oldatot készítettem, amelynek pH-ját 10%-os HCl oldat felhasználásával pH=2 értékre állítottam be. Ezután az oldatot autoklávban 121°C-on, 15 percig steriliztem, majd felhasználás előtt, lamináris fülkében 3 g/l pepszint adtam hozzá és homogenizáltam.

### **4.5.2. Epesavat modellező oldat**

Az epe-modellhez 500 ml, 0,05 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  oldatot készítettem, amelynek pH-ját NaOH oldat felhasználásával pH=7,43 értékre állítottam be. Ezután az oldatot autoklávban 121°C-on, 15 percig steriliztem, majd felhasználás előtt, lamináris fülke alatt 6 g/l epesót adtam hozzá és homogenizáltam.

### **4.5.3. Tolerancia vizsgálat**

A tolerancia vizsgálatokhoz a kémcsövekbe 9 ml modell oldatokat készítettem elő, amelyekhez 1-1 ml mintát pipettáztam, majd a kémcsöveket 37°C-os vízfürdőbe helyezve inkubáltam. Három órán keresztül óránként mintákat vettem és meghatároztam a sejtszámokat.

## 4.6. Tárolási kísérlet

A tárolási kísérlet során 5%-os inokulum tenyésztéssel indított 24 órás fermentációt követően vizsgáltam TPY táplevesben és fermentált vegyes gyümölcslevekben a sejtek életképességét. A prebiotikum védő hatásának vizsgálatához a fermentált gyümölcslevet 1% Raftilinnel egészítettem ki.

A mintákat szobahőmérsékleten (25°C) 6 hétig, valamint hűtött körülmények között (4°C) 21 hétig tároltam. Annak ellenére, hogy a *Bifidobacterium*-ok az anaerob környezetet preferálják, a tárolás nem oxigén kizárása mellett történt.

## 4.7. Szerves sav és szénhidráttartalom meghatározása HPLC módszerrel

### 4.7.1. A minták előkészítése

A kísérletek során vett mintákat 14 000 rpm fordulatszámon 10 percig centrifugáltam, majd a mérendő felülúszókat speciális, HPLC berendezéshez használt csövekbe pipettáztam.

### 4.7.2. Az alkalmazott HPLC berendezés

#### Felépítése:

- Thermo Fisher Scientific Corporation HPLC készülék
- Detektor: PDA detektor (210 nm), RI detektor (410 nm)
- Oszlop: Agilent HiPlexH
- Integrált program: ChromQuest 5.0 szoftver

#### Jellemzői:

- Mozgó fázis: 0,005N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- Áramlási sebesség: 0,6 ml/perc
- Oszlop hőmérséklet: 45°C
- Detektor hőmérséklet: 45°C
- Injektált minta: 10 µl

#### Alkalmazott standardok:

**Szénhidrát standardok:** glükóz, fruktóz, diszacharid, triszacharid

**Szerves sav standardok:** tejsav, ecetsav



## 5. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Munkám során három probiotikus törzset (*Bifidobacterium longum* DSM 16603, *Bifidobacterium lactis* Lafti<sup>®</sup>B94 és *Bifidobacterium lactis* Bb-12) felhasználva vizsgáltam alma, meggy és szilva tartalmú vegyes gyümölcsle fermentálhatóságát. Az elvégzett vizsgálataim alapján legjobb eredményeket mutató törzssel dolgoztam tovább.

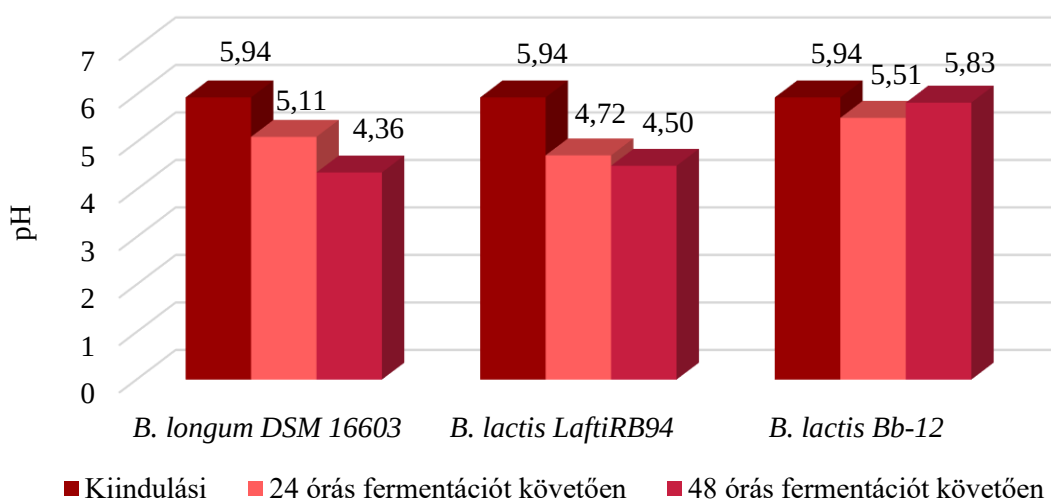
Minden vizsgálat során, a fermentációt követően meghatároztam a sejtszámok és a pH értékek alakulását, valamint a mintáim szerves sav és szénhidráttartalmát. Tolerancia vizsgálat és tárolási kísérlet segítségével vizsgáltam a baktériumok túlélését és a hozzáadott prebiotikum esetleges kedvező hatását.

### 5.1. Vegyes gyümölcs alapú tápközeg fermentálhatóságának vizsgálata probiotikus *Bifidobacterium* törzsekkel

Vegyes gyümölcsle fermentálhatóságát vizsgáltam *Bifidobacterium* törzsek felhasználásával. A vegyes gyümölcsle fermentációkat 1%-os és 5%-os inokulum tenyésztettel indítottam, majd 24 és 48 órát követően megvizsgáltam a pH értékek, a sejtszámok, a szerves sav és a szénhidráttartalom alakulását.

#### 5.1.1. pH értékek és sejtszámok alakulása 1% inokulummal indított fermentáció esetén

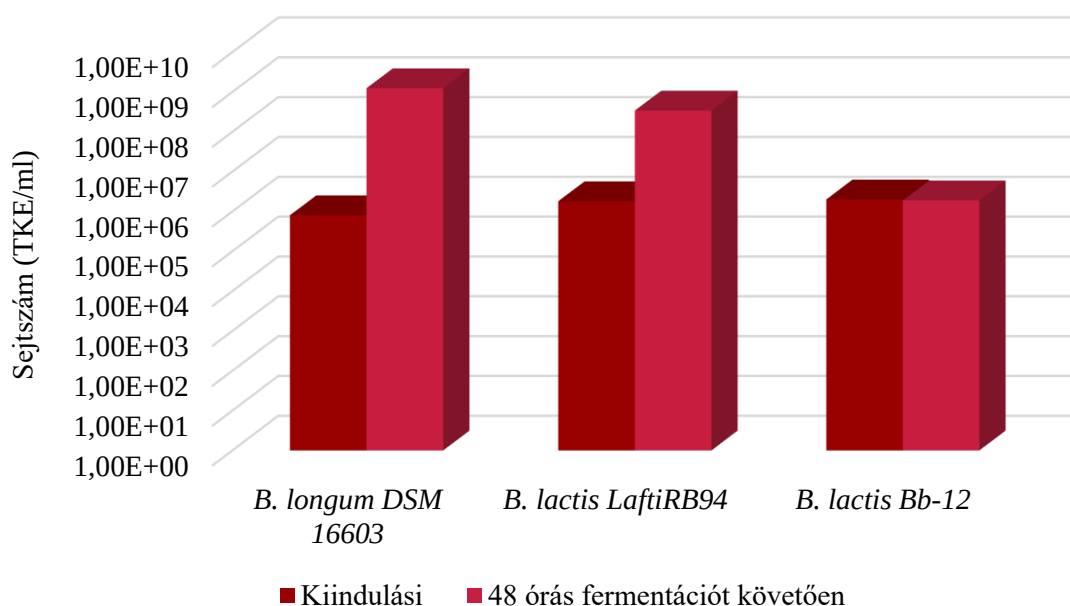
A vegyes gyümölcsle pH értékét 5,94-ra állítottam, majd az 1%-os inokulum tenyésztettel indított fermentációt követően mért pH értékek alakulását a **2. ábrán** szemléltettem.



**2.ábra:** pH értékek alakulása vegyes gyümölcsle 1%-os inokulum tenyésztettel indított, 24 és 48 órás fermentációját követően 3 *Bifidobacterium* törzs esetén

A **2.ábrán** látható, hogy 24 órát követően nem tapasztalható kellő mértékű pH csökkenés, a baktériumok lassan adaptálódtak a gyümölcslehez, ezért a fermentációs időt meghosszabbítva, 48 óra elteltével is sor került a pH értékek mérésére. A gyümölcslé kiindulási pH 5,94 értékét a *Bifidobacterium longum* DSM 16603 törzs csökkentette le a legnagyobb mértékben, a 24 órás fermentációt követően mért érték ebben az esetben pH 5,11, majd 48 óra elteltével pH 4,36 volt. Hasonló, enyhén kisebb mértékű pH csökkenést tapasztaltam a *Bifidobacterium lactis* Lafti<sup>R</sup>B94 törzs esetében, ahol 24 óra elteltével pH 4,72-os, majd a 48 órás fermentációt követően pH 4,50-os értéket mértem. Azonban a *Bifidobacterium lactis* Bb-12 törzsszel beoltott gyümölcslévet vizsgálva igen kismértékű csökkenést tapasztaltam. 24 óra elteltével pH 5,51-ot, majd 48 órát követően pH 5,83-ot mértem. A pH növekedése arra utal, hogy a sejtek nem szaporodtak, illetve elpusztultak, feltételezhető tehát, hogy a törzs számára nem megfelelőek a körülmények.

A pH mérése mellett meghatároztam a sejtszámokat is mind a kísérlet kezdetén, majd az 1%-os inokulum tenyésztéssel indított, 48 órás fermentációt követően is. Mindkét esetben megfelelő hígítási sorozatot készítettem és lemezöntést végeztem. A kapott eredményeket a **3.ábrán** összegeztem.



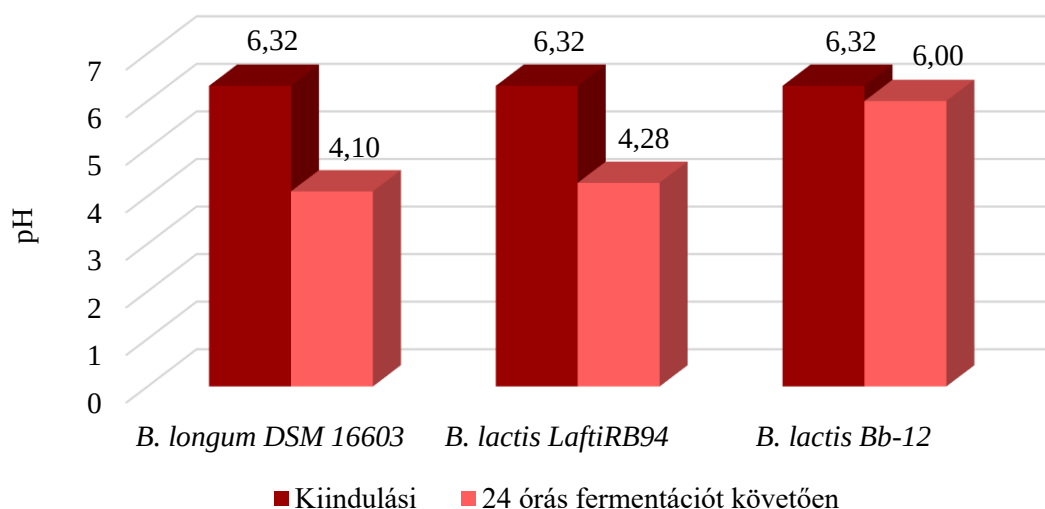
**3.ábra:** Sejtszámok alakulása vegyes gyümölcslé 1%-os inokulum tenyésztéssel indított, 48 órás fermentációját követően 3 *Bifidobacterium* törzs esetén

A **3.ábrán** megfigyelhető, hogy a pH csökkenés vizsgálatokhoz hasonlóan, a *Bifidobacterium longum* DSM 16603 és a *Bifidobacterium lactis* Lafti<sup>R</sup>B94 törzsek esetében számolt fermentációt követő sejtszámok igen magas értékeket mutatnak. A *Bifidobacterium longum* DSM 16603 törzsszel beoltott tápközegek vizsgálatokor, a kiindulási

sejtszám  $8,00 \cdot 10^5$  TKE/ml volt, amely 48 órás fermentációt követően  $1,24 \cdot 10^9$  TKE/ml-re nőtt. A *Bifidobacterium lactis* Lafti<sup>®</sup>B94 törzs vizsgálatakor a sejtszám a kezdeti  $1,80 \cdot 10^6$  TKE/ml értékről, a fermentációt követően  $3,40 \cdot 10^8$  TKE/ml-re emelkedett. A két törzset egyszerre vizsgálva megállapítható, hogy a fermentáció során tapasztalt sejtszám növekedés mértéke a *Bifidobacterium lactis* Lafti<sup>®</sup>B94 törzs esetén volt kisebb. A *Bifidobacterium lactis* Bb-12 törzs esetében a kiindulási sejtszám  $2,00 \cdot 10^6$  TKE/ml volt, amely a fermentációt követően sem változott jelentős mértékben, alátámasztva a pH értékek vizsgálatakor tett felvetésemet, amely szerint a baktériumok nem voltak képesek szaporodni az adott körülmények között, a sejtek elpusztultak.

### 5.1.2. pH értékek és sejtszámok alakulása 5% inokulummal indított fermentáció esetén

Az 1%-os inokulummal indított elhúzódo fermentáció miatt a következő vizsgálat során 5%-os inokulum tenyésztettel indítottam a vegyes gyümölcsle fermentációt, s a 24 órát követően mért pH értékek alakulását a **4. ábrán** szemléltettem.



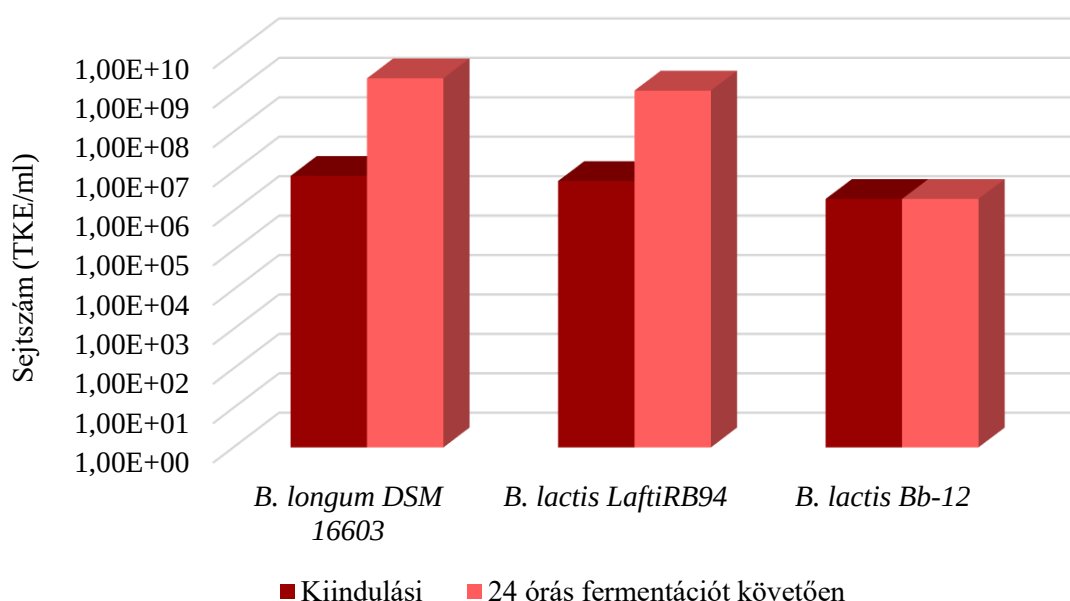
**4.ábra:** pH értékek alakulása vegyes gyümölcsle 5%-os inokulum tenyésztettel indított, 24 órás fermentációját követően 3 *Bifidobacterium* törzs esetén

A **4.ábrán** látható, hogy 5%-os beoltás esetén gyorsabb volt a fermentáció, 24 óra elteltével, két törzs esetében is megfelelő mértékű pH érték csökkenés tapasztalható. Hasonlóan az 1%-os beoltást követő mérés eredményeihez, a kiindulási 6,32-os pH értéket a *Bifidobacterium longum* DSM 16603 törzs csökkentette le a legnagyobb mértékben, a fermentációt követően mért érték pH 4,10 volt. Ebben az esetben is hasonló mértékű pH csökkenés volt megfigyelhető a *Bifidobacterium lactis* Lafti<sup>®</sup>B94 törzs esetében, ahol a fermentációt követően pH 4,28-os értéket mértem. A *Bifidobacterium lactis* Bb-12 törzsszel

beoltott gyümölcslevet vizsgálva ugyancsak igen kismértékű pH érték csökkenést tapasztaltam, a mért érték pH 6,00 volt, amely az 1%-os beoltás során tapasztalt csökkenéssel hasonló mértékű, 0,32-os változást jelentett, amely így is jelentős mértékben elmarad a másik két törzs esetén tapasztaltaktól.

A *Bifidobacterium longum* DSM 16603 és a *Bifidobacterium lactis* Lafti<sup>®</sup>B94 törzseknél tapasztalható pH csökkenés a baktériumok szaporodására enged következtetni, hiszen a metabolikus aktivitásuk során nagy mennyiségű sav termelődik. A *Bifidobacterium lactis* Bb-12 törzs esetében tapasztalt igen kismértékű pH változás a baktériumok szaporodásának hiányára, a sejtek pusztulására utalhat. Feltevéseim alátámasztásának érdekében a fermentációkat követően, a pH változások mellett meghatároztam a sejtszámok alakulását is.

Az 5%-os tenyésztel indított, 24 órás fermentáció esetében is meghatároztam mind a kiindulási, mind a fermentációt követő sejtszám értékeket, amelyeket az **5.ábrán** szemléltettem.



**5.ábra:** Sejtszámok alakulása vegyes gyümölcsle 5%-os inokulum tenyésztel indított, 24 órás fermentációját követően 3 *Bifidobacterium* törzs esetén

Az **5.ábrán** megfigyelhető, hogy a *Bifidobacterium longum* DSM 16603 és a *Bifidobacterium lactis* Lafti<sup>®</sup>B94 törzsek esetében, mind a kiindulási, mind a fermentációt követő sejtszámok hasonló értékeket mutatnak. A *Bifidobacterium longum* DSM 16603 törzzsel beoltott gyümölcsleében a kiindulási sejtszám  $7,70 \cdot 10^6$  TKE/ml volt, amely 24 órás fermentációt követően  $2,30 \cdot 10^9$  TKE/ml-re nőtt. A *Bifidobacterium lactis* Lafti<sup>®</sup>B94 törzs sejtszáma a kezdeti  $5,70 \cdot 10^6$  TKE/ml értékről, a fermentációt követően  $1,12 \cdot 10^9$  TKE/ml-re

emelkedett. Megállapítható tehát, hogy a gyümölcsle megfelelő tápanyagforrást jelentett a két törzs számára, lehetővé tette azok elszaporodását és életben maradását. A két törzset összehasonlítva elmondható, hogy a fermentációt követően tapasztalt sejtszám növekedés mértéke a *Bifidobacterium longum* DSM 16603 törzs esetében volt nagyobb. A *Bifidobacterium lactis* Bb-12 törzs esetén a kiindulási sejtszám  $2,00 \cdot 10^6$  TKE/ml volt, amely a fermentációt követően jelen esetben sem változott jelentős mértékben, így megállapítható, hogy az adott körülmények nem kedvezőek a törzs számára.

Havas és munkatársai (2014) 24 órás narancslé fermentációt követően, a legnagyobb mértékű sejtszám növekedést a *Bifidobacterium longum* Bb-46 törzsnél figyelték meg, a kezdeti,  $6,2 \cdot 10^6$  TKE/ml-es érték  $1,8 \cdot 10^9$  TKE/ml-re növekedett, amely közel azonos az általam vizsgált törzsek közül a legjobb eredményeket mutató *Bifidobacterium longum* DSM 16603 és *Bifidobacterium lactis* Lafti<sup>®</sup>B94 törzseknél tapasztalt, 24 órás fermentációt követő sejtszámokkal.

Nguyen és munkatársai (2019) ananászlevet vizsgálva, 24 órás fermentációt követően tejsavbaktériumok esetén nagyobb sejtszámokat mértek. A kezdeti sejtszám értékek  $10^6$ - $10^7$  TKE/ml nagyságrendűek voltak, amelyek a *L. acidophilus* La5 törzs esetében  $3,99 \cdot 10^9$  TKE/ml-re, a *L. plantarum* 299v törzsnél  $4,85 \cdot 10^9$  TKE/ml-re nőttek, míg az általam is vizsgált *B. lactis* Bb-12 törzs esetén szintén sejtszám növekedést figyelték meg ( $5,15 \cdot 10^8$  TKE/ml).

Nguyen (2021) ananász-, mangó-, valamint banánlevet vizsgálva, 24 órás fermentációt követően hasonló eredményeket tapasztalt *B. lactis* Bb-12 és *B. longum* DSM 16603 törzsek esetén. Ananászlében a fermentációt követően  $10^{10}$  TKE/ml, mangó- és banánlében  $10^9$  TKE/ml nagyságrendű sejtszámokat tapasztalt. Mindezek alapján megállapítható, hogy a *B. lactis* Bb-12 törzs számára a hazai alma, szilva, meggy gyümölcsökből készített levek kevésbé, míg a trópusi gyümölcslevek kiválóan alkalmasak növekedési szubsztrátumként. Megfigyelhető továbbá, hogy az azonos fajból származó különböző törzsek (Bb-12 és Lafti<sup>®</sup>B94) eltérő viselkedést mutatnak azonos körülmények között.

Az 1%-os és 5%-os inokulum tenyésztéssel indított fermentációk során mért pH értékeket és sejtszámokat összehasonlítva látható, hogy az 1%-os beoltás esetén lassabb a fermentáció, több időre van szükség a baktériumok tápközeghez való adaptálódásához, a megfelelő mértékű szaporodásához és anyagcseréjéhez. Összességében tehát 5%-os, nagyobb arányú beoltással a fermentációs idő lerövidíthető 24 órára.

Mindezek alapján további vizsgálataimat, 5%-os inokulum tenyésztéssel indított, 24 órás fermentációt követően végeztem.

### 5.1.3. Szerves sav tartalom vizsgálata

HPLC technika segítségével mindhárom törzs esetében megmértem a 24 órás fermentációt követő szerves sav tartalmat. A kapott eredményeket a **7.táblázatban** foglaltam össze.

**7.táblázat:** Szerves sav tartalom vegyes gyümölcsle 5%-os inokulum tenyésztéssel indított, 24 órás fermentációját követően 3 *Bifidobacterium* törzs esetén

| Törzs                                                   | Tejsav    | Ecetsav |
|---------------------------------------------------------|-----------|---------|
|                                                         | mg/100 ml |         |
| <i>Bifidobacterium longum</i><br>DSM 16603              | 41,92     | 13,62   |
| <i>Bifidobacterium lactis</i><br>Lafti <sup>®</sup> B94 | 53,59     | 11,31   |
| <i>Bifidobacterium lactis</i><br>Bb-12                  | 0,21      | -       |

A **7.táblázatban** szereplő eredményeket tekintve látható, hogy 24 órás fermentációt követően a *Bifidobacterium longum* DSM 16603 törzssel beoltott gyümölcslemben 41,92 mg/100ml tejsavat és 13,62 mg/100ml ecetsavat mutattam ki, míg a *Bifidobacterium lactis* Lafti<sup>®</sup>B94 törzset vizsgálva hasonló arányokat tapasztaltam, azonban több, 53,59 mg/100ml tejsav és kevesebb, 11,31 mg/100ml ecetsav volt kimutatható. A *Bifidobacterium lactis* Bb-12 törzssel beoltott gyümölcsle vizsgálatakor nem volt kimutatható mennyiségű ecetsav, valamint a másik két törzshöz képest igen kevés, 0,21 mg/100ml tejsav volt jelen, amely magyarázza az igen kismértékű pH csökkenést.

A bifidobaktériumok metabolizmusát tekintve megállapítható, hogy 3:2 molarányban képeznek ecetsavat és tejsavat (Hoover et al., 2014). A **7.táblázatban** szereplő mért adatok alapján megfigyelhető, hogy méréseim eredményei nem támasztják alá ezt az eléleti molarányt.

Havas és munkatársai 2014-ben végzett kísérletei során hasonló eredményeket tapasztaltak *Bifidobacterium lactis* Bb-12 törzset vizsgálva narancs-, meggy-, répa- és paradicsomlében, ezért azt a megállapítást tették, hogy a savtermelés aránya jobban függ az éppen alkalmazott törzstől, mint a fermentációs tápközegtől. Méréseim eredményei is alátámasztják ezt a megállapítást, hiszen két *B. lactis* törzset vizsgálva, teljesen eltérő viselkedést figyeltem meg. Míg a DSM 16603 törzs esetében igen jelentős savtermelést, illetve ezzel arányos mértékű pH csökkenést tapasztaltam, addig a Bb-12 törzsnél igen kismértékű savtermelés és pH csökkenés volt jellemző.

Desjardins és munkatársai (1990) szintén az elméleti mólaránytól eltérő értékeket tapasztaltak, az általuk többek között vizsgált *Bifidobacterium infantis* ATCC 27920 törzs, tejben történő fermentációjakor több tejsavat termelt, mint ecetsavat. A savak ilyen aránya azonban kedvezően hat az érzékszervi jellemzőkre, a kóstoláskor kevésbé érzékelhető jellegzetes ecetes íz.

#### 5.1.4. Szénhidráttartalom vizsgálata

A szerves sav tartalom mellett, megmértem a gyümölcslevek kiindulási és 24 órás fermentációt követő szénhidráttartalmát, amelyet a **8.táblázatban** összegeztem.

A *Bifidobacterium lactis* Bb-12 törzs esetében tapasztalt nem kielégítő pH és sejtszám értékekből fakadóan, nem vizsgáltam a törzs szénhidráthasznosítását.

**8.táblázat:** Szénhidráttartalom vegyes gyümölcslé 5%-os inokulum tenyésztéssel indított, 24 órás fermentációját követően 2 *Bifidobacterium* törzs esetén

|                                                               | Triszacharidok | Diszacharidok | Glükóz | Fruktóz |
|---------------------------------------------------------------|----------------|---------------|--------|---------|
|                                                               | g/100 ml       |               |        |         |
| <b>Kiindulási</b>                                             | 0,06           | 2,84          | 7,03   | 9,58    |
| <b><i>Bifidobacterium longum</i><br/>DSM 16603</b>            | 0,02           | 1,52          | 2,19   | 2,64    |
| <b><i>Bifidobacterium lactis</i><br/>Lafti<sup>®</sup>B94</b> | 0,04           | 2,21          | 3,24   | 4,06    |

A *Bifidobacterium*-ok számos szénhidrátot képesek hasznosítani, azonban a különböző törzsek szénhidrát-anyagcseréje eltérő (Pokusaeva et al., 2011). A **8.táblázatban** szereplő értékeket vizsgálva elmondható, hogy a *Bifidobacterium longum* DSM 16603 törzs nagymértékben hasznosította a szénhidrátokat, összesítve 67%-ot volt képes felhasználni. A *Bifidobacterium lactis* Lafti<sup>®</sup>B94 törzs kevésbé jó eredményeket produkált, összesített szénhidrát hasznosítása mindössze 51% volt, amely igencsak elmarad az első törzs esetében tapasztaltaktól.

A különböző szénhidrátokat tekintve, mindkét törzs a fruktózt hasznosította legnagyobb mértékben. A *Bifidobacterium longum* DSM 16603 a kiindulási fruktóz mennyiség 72%-át, a *Bifidobacterium lactis* Lafti<sup>®</sup>B94 58%-át hasznosította.

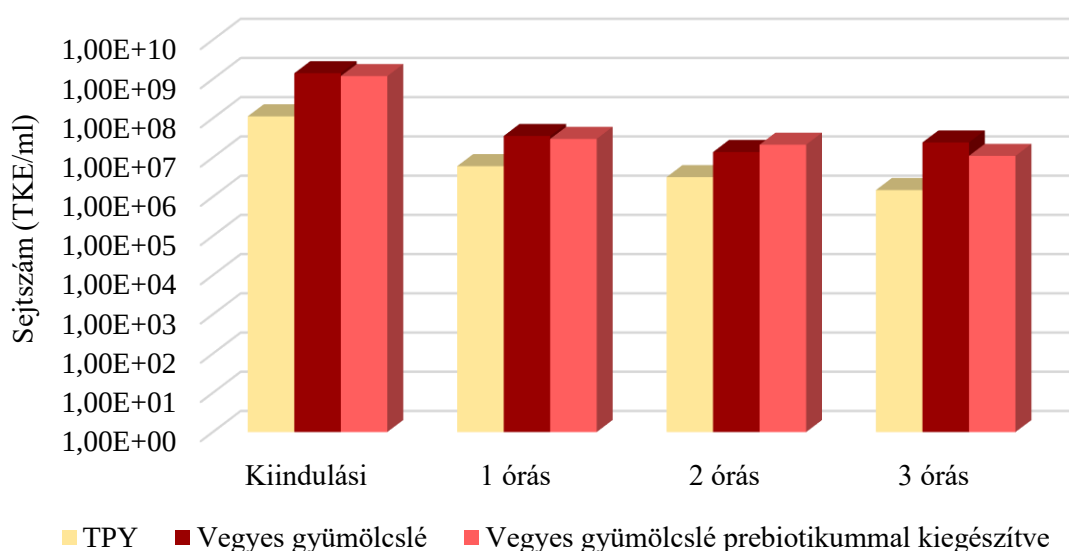
A három törzzsel végzett kísérleteim során összességében legjobb eredményeket mutató *Bifidobacterium longum* DSM 16603 törzset választottam ki a további vizsgálatokra.

## 5.2. *Bifidobacterium longum* DSM 16603 törzzsel fermentált vegyes gyümölcsle tolerancia vizsgálata

A baktériumok túlélésének és a hozzáadott prebiotikum védő hatásának elemzésére tolerancia vizsgálatot végeztem *Bifidobacterium longum* DSM 16603 törzs felhasználásával. A vizsgálat során három beállítást készítettem, amelyek a következők: TPY tápközegben felszaporított mikroba, vegyes gyümölcsleiben felszaporított mikroba, valamint a fermentált gyümölcsle prebiotikummal kiegészített változata. Mind a gyomorsavas, mind az epesavas kezelést három órán át végeztem és óránként vettem mintákat, amelyek segítségével meghatároztam a sejtszámokat.

### 5.2.1. Sejtszámok alakulása gyomorsavas kezelést követően

A gyomorsavas kezelés során vett mintákból számolt sejtszám értékek alakulását a 6.ábrán szemléltettem.



**6.ábra:** Sejtszámok alakulása *B. longum* DSM 16603 törzzsel fermentált TPY tápközeg és vegyes gyümölcslevek gyomorsavas kezelését követően

A 6.ábrán látható eredmények alapján megfigyelhető, hogy a TPY tápközeges minták esetében a kezelés időtartamának előrehaladtával a sejtszámok folyamatos csökkenése volt tapasztalható, a kiindulási  $1,12 \cdot 10^8$  TKE/ml-es értékhez képest a harmadik órában  $1,48 \cdot 10^6$  TKE/ml-t mértem. Megállapítható, hogy a csökkenés mértéke a kezelés első órájában volt a legnagyobb. A vegyes gyümölcsléből készült minták esetében, a kiinduláskor  $1,41 \cdot 10^9$  TKE/ml, majd a kezelés első órájában  $3,54 \cdot 10^7$  TKE/ml, a másodikban  $1,38 \cdot 10^7$  TKE/ml, a harmadikban  $2,42 \cdot 10^7$  TKE/ml sejtszám értékeket határoztam meg. A prebiotikummal



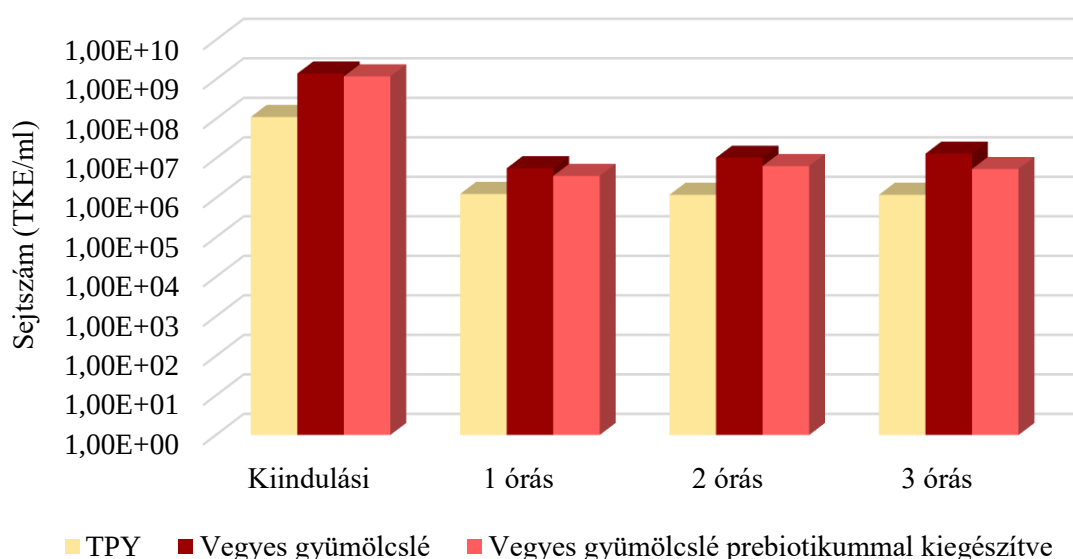
kiegészített mintáknál kapott eredmények hasonlóak a TPY tápközegnél tapasztaltakhoz, ebben az esetben is csökkenés figyelhető meg a sejtszámok tekintetében, a kiinduláskor  $1,19 \cdot 10^9$  TKE/ml-t, majd a harmadik órában  $1,10 \cdot 10^7$  TKE/ml értéket mértem. Ebben az esetben is a legnagyobb mértékű sejtszám csökkenés a kezelés első órájában tapasztalható.

A kapott eredményekből arra következtettem, hogy a gyomorsavas kezelés során nem érvényesült a prebiotikum védő hatása, hiszen a gyümölcslevek esetében mért sejtszám értékek nem térnek el egymástól jelentős mértékben. Azonban az is megfigyelhető, hogy a TPY tápközegben a kezelés végeztével jelentősen alacsonyabb sejtszám értékeket mértem, mint a gyümölcs alapú mintáknál, tehát elmondható, hogy maga a gyümölcs is olyan komplex, rostban gazdag tápközeg, amely elegendő védelmet nyújt a baktériumok számára.

A WHO által megfogalmazott kritérium szerint a probiotikus termékeknek legalább  $10^6$ - $10^7$  TKE/ml életképes probiotikus baktériumot kell tartalmazniuk, hiszen így érvényesül azok kedvező élettani hatása (Aspri et al., 2020; Kechagia et al., 2013). A kezelés eredményeit tekintve elmondható, hogy mind a vegyes gyümölcslében, mind a prebiotikummal kiegészítettben két nagyságrendnyit csökkent a probiotikus bifidobaktériumok sejtszáma, azonban megfelelően nagy kiindulási sejtszám alkalmazása esetén, a kezelést követően is megfelelnek a probiotikus törzstől elvárt kritériumnak.

### 5.2.2. Sejtszámok alakulása epesavas kezelést követően

Az epesavas kezelés során vett mintákból számolt sejtszám értékek alakulását a **7.ábrán** szemléltettem.



**7.ábra:** Sejtszámok alakulása *B. longum* DSM 16603 törzzsel fermentált TPY tápközeg és vegyes gyümölcslévek epesavas kezelését követően

A 7.ábrát megvizsgálva elmondható, hogy a TPY tápközege minták esetében az epesavas kezelés kezdetén  $1,12 \cdot 10^8$  TKE/ml-t, majd az első órában  $1,26 \cdot 10^6$  TKE/ml értéket mértem, amely a kezelés második órájában  $1,20 \cdot 10^6$  TKE/ml volt, és a harmadik órát követően sem változott. A vegyes gyümölcslemből készült minták esetében a kezelés előrehaladtával a sejtszámok csökkenése, majd kismértékű növekedése tapasztalható. Összességében a kiinduláskor mért  $1,41 \cdot 10^9$  TKE/ml a harmadik órában  $1,32 \cdot 10^7$  TKE/ml-re csökkent. A prebiotikummal kiegészített minták esetében a kiinduláskor  $1,19 \cdot 10^9$  TKE/ml-es, a kezelés első órájában  $3,61 \cdot 10^6$  TKE/ml-es, a harmadik órában  $5,40 \cdot 10^6$  TKE/ml-es sejtszám értékeket mértem. Az epesavas kezelés esetén is megállapítható, hogy minden mintánál a kezelés első órájában tapasztalható a sejtszámok legnagyobb mértékű csökkenése. A kapott eredményekből arra következtettem, hogy a gyümölcs is elegendő védelmet jelentett a baktériumok számára, amely nem fokozható prebiotikum hozzáadásával.

A tolerancia vizsgálat során elvégzett kezelések összehasonlításakor látható, hogy a legnagyobb változás az első órában történt, majd azt követően míg a gyomorsavas kezelés előrehaladtával kismértékben csökkentek a sejtszámok, addig az epesavas kezelés esetében inkább stagnáltak az értékek. Egyik kezelés során sem tapasztaltam, hogy prebiotikum jelenlétében az élősejtszám értékek jelentősen különböztek volna a prebiotikum kiegészítés nélküli mintától, tehát maga a gyümölcs elegendő védelmet jelentett a baktériumok számára. Azonban fontos megjegyezni, hogy az emberi szervezetben együttesen érvényesül a gyomorsav, valamint az epesav hatása, ezért további vizsgálatok elvégzése szükséges annak érdekében, hogy megfelelő képet kapjunk a baktériumok emésztőrendszerben való túléléséről.

### 5.3. Monokultúrával fermentált vegyes gyümölcsle tárolási kísérlete

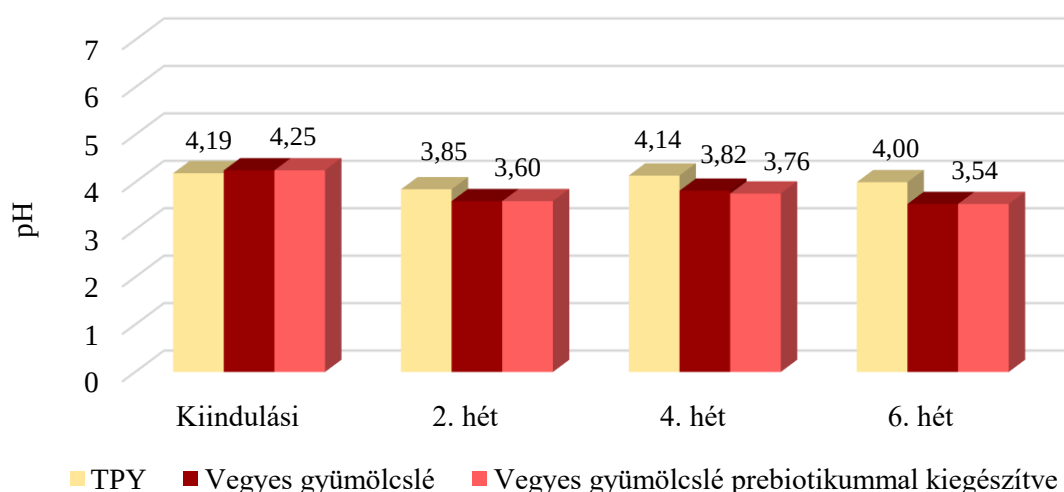
*Bifidobacterium longum* DSM 16603 törzsszel fermentált gyümölcslevekkel tárolási kísérletet végeztem annak érdekében, hogy megvizsgáljam a baktériumok túlélését, ezáltal a fermentált gyümölcsle eltarthatóságát, valamint a hozzáadott prebiotikum esetleges segítő hatását. Kontrollként a probiotikum fenntartására alkalmazott TPY táplevest használtam. A tápközegeket a 24 órás fermentációt követően kétfelé osztottam, egyik felét szobahőmérsékleten, másik felét hűtött körülmények között tároltam. A fermentáció után mért adatokat mind a szobahőmérsékleten, mind a hűtött körülmények között történő tárolás során kiindulási értékeként tüntettem fel.

A tárolási kísérletek során megvizsgáltam a pH értékek és a sejtszámok alakulását mind szobahőmérsékleten (25°C), mind hűtött körülmények között (4°C), valamint a minták szerves sav és szénhidráttartalmát. Annak ellenére, hogy a *Bifidobacterium*-ok az anaerob környezetet preferálják, a tárolás nem oxigén kizárása mellett történt.

### 5.3.1. A pH és a sejtszámok alakulása, valamint a minták szerves sav és szénhidráttartalma szobahőmérsékleten

A szobahőmérsékleten történő tárolás során minden második héten vettem mintákat steril körülmények között. A kísérletsorozatot 6 héten keresztül végeztem, ezalatt az idő alatt nyomon követtem mind a pH, mind a sejtszámok alakulását, valamint mértem a minták szerves sav és szénhidráttartalmát.

A tárolás során mért pH értékek alakulását a **8.ábrán** szemléltettem.



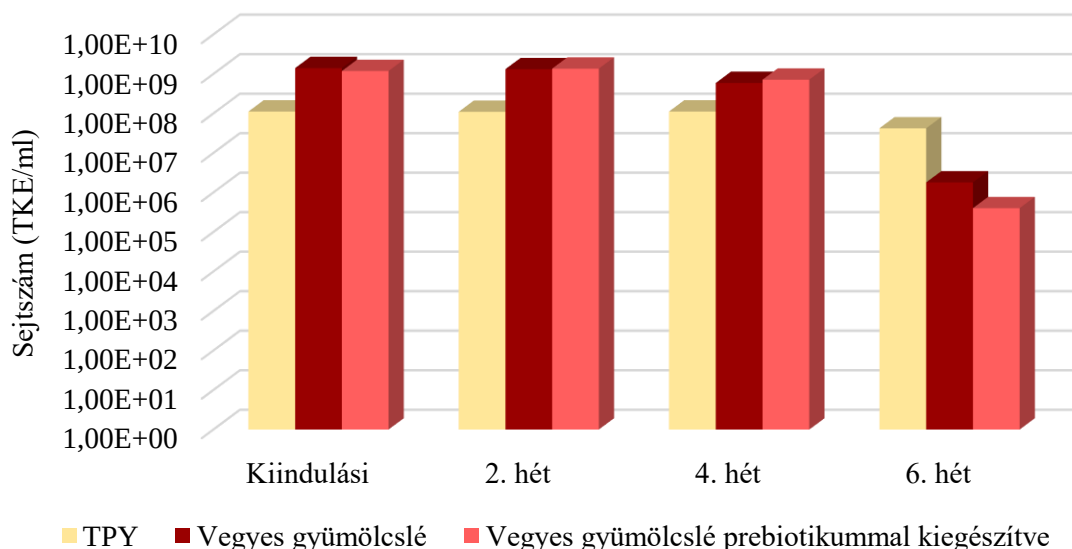
**8.ábra:** pH értékek alakulása *B. longum* DSM 16603 törzsszel fermentált TPY tápközeg és vegyes gyümölcslevek szobahőmérsékleten történő tárolása során

A **8.ábrán** bemutatott eredmények alapján látható, hogy a TPY tápközeges minták esetében igen kismértékű változás történt, a kiindulási pH 4,19 érték pH 4,00-re csökkent. A vizsgált gyümölcslevek esetében azonban látható, hogy a második héttől kezdődően folyamatos csökkenés történt, a kiindulási 4,25-os pH értékek pH 3,54-ra csökkentek. Annak ellenére, hogy prebiotikum hozzáadásával további cukor került a rendszerbe, mégsem tértek el a kiegészített minták esetében mért pH értékek a sima vegyes gyümölcslevekénél mértektől, tehát nem történt további szénhidrát hasznosítás, valamint savtermelés.

Minden heti mérésnél megfigyelhető, hogy a gyümölcs alapú tápközeges minták esetében alacsonyabb pH értékeket mértem, mint a TPY tápközeges mintáknál, amely a baktériumok nagyobb mértékű savtermelésére enged következtetni. Mindezek alapján megállapítható,

hogyan az általam használt vegyes gyümölcsle alapú tápközeg a fermentációt követően is alkalmas arra, hogy a baktériumok megfelelő anyagcserét folytathassanak.

A tárolás során vett mintákból számolt sejtszám értékek alakulását a **9.ábrán** szemléltettem.



**9.ábra:** Sejtszámok alakulása *B. longum* DSM 16603 törzsszel fermentált TPY tápközeg és vegyes gyümölcslevek szobahőmérsékleten történő tárolása során

A **9.ábrát** megvizsgálva látható, hogy a TPY tápközeges minták esetében az első négy héten nem változott a kiindulási,  $1,12 \cdot 10^8$  TKE/ml-es sejtszám. A hatodik héten figyelhető meg jelentősebb mértékű csökkenés, a mért érték  $4,20 \cdot 10^7$  TKE/ml volt. A vegyes gyümölcslevek esetében a kiindulási,  $1,41 \cdot 10^9$  TKE/ml-es sejtszám jelentősebb mértékű csökkenése a negyedik héten kezdődött, ekkor  $5,92 \cdot 10^8$  TKE/ml-t, a hatodik héten  $1,80 \cdot 10^6$  TKE/ml-t mértem. A prebiotikummal kiegészített minták esetében a kiindulási,  $1,19 \cdot 10^9$  TKE/ml-es sejtszám a negyedik héten kezdett el jelentősebb mértékben csökkenni, hasonlóan a kiegészítés nélküli vegyes gyümölcslehez. A negyedik héten  $7,15 \cdot 10^8$  TKE/ml-t, a hatodik héten  $4,00 \cdot 10^5$  TKE/ml-t mértem.

A vegyes gyümölcsle esetében a hatodik héten is  $10^6$  TKE/ml nagyságrendű értéket számoltam, így megállapítható, hogy a WHO által leírt minimális  $10^6$  TKE/ml kritériumot figyelembe véve, a *Bifidobacterium longum* DSM 16603 törzsszel fermentált vegyes gyümölcsle szobahőmérsékleten körülbelül hat hétig tárolható. Ezzel szemben a prebiotikummal kiegészített gyümölcsle szobahőmérsékleten rövidebb ideig tartható el.

A tárolási kísérlet során megmértem a minták szerves sav és szénhidráttartalmát, a kapott eredményeket a **9.táblázatban** összegeztem.

**9.táblázat:** *B. longum* DSM 16603 törzzsel fermentált TPY tápközeg és vegyes gyümölcslevek szerves sav és szénhidráttartalma szobahőmérsékleten történő tárolás során

|                                              | Szénhidráttartalom |                |        |         | Szerves sav tartalom |         |
|----------------------------------------------|--------------------|----------------|--------|---------|----------------------|---------|
|                                              | Tri-szacharidok    | Di-szacharidok | Glükóz | Fruktóz | Tejsav               | Ecetsav |
|                                              | g/100 ml           |                |        |         | mg/100 ml            |         |
| TPY                                          |                    |                |        |         |                      |         |
| Kiindulási                                   | -                  | -              | 0,08   | -       | 17,31                | 6,67    |
| 2. hét                                       | -                  | -              | 0,02   | -       | 20,28                | 12,65   |
| 4. hét                                       | -                  | -              | 0,03   | -       | 29,80                | 25,59   |
| 6. hét                                       | -                  | -              | 0,03   | -       | 31,02                | 27,53   |
| Vegyes gyümölcslé                            |                    |                |        |         |                      |         |
| Kiindulási                                   | 0,02               | 1,75           | 2,53   | 3,17    | 56,46                | 11,07   |
| 2. hét                                       | 0,01               | 1,02           | 1,59   | 1,91    | 57,43                | 8,11    |
| 4. hét                                       | 0,02               | 1,33           | 2,12   | 2,32    | 99,07                | 12,04   |
| 6. hét                                       | 0,04               | 1,38           | 2,38   | 2,60    | 119,68               | 13,96   |
| Vegyes gyümölcslé prebiotikummal kiegészítve |                    |                |        |         |                      |         |
| Kiindulási                                   | 0,04               | 1,11           | 1,62   | 2,25    | 34,26                | 4,79    |
| 2. hét                                       | 0,02               | 1,20           | 1,86   | 2,20    | 64,71                | 2,96    |
| 4. hét                                       | 0,02               | 1,53           | 2,42   | 2,64    | 108,01               | 4,68    |
| 6. hét                                       | 0,04               | 1,31           | 2,26   | 2,49    | 108,56               | 3,51    |

A 9.táblázatban szereplő eredményeket vizsgálva elmondható, hogy a vegyes gyümölcslé esetében a legnagyobb arányban hasznosuló szénhidrátok a diszacharidok voltak, a kiindulási 1,75 g/100ml a hatodik hét végére 1,38 g/100ml-re csökkent. A mért triszacharid értékek növekedése az összetett szénhidrátok lebontásával magyarázható. A szerves savak mennyiségét tekintve elmondható, hogy hat hét elteltével a vegyes gyümölcslében jelentősen nagyobb mennyiségű, 13,96 mg/100ml ecetsav van jelen, mint a prebiotikummal kiegészített mintában, amely esetén 3,51 mg/100ml-t mértem. A kapott eredményeket alátámasztja, hogy a prebiotikummal kiegészített minták kevésbé voltak ecetesek szaglaskor és kóstoláskor. A mért tejsav koncentráció folyamatosan növekedett a gyümölcs alapú mintáknál, amely összhangban van a pH csökkenésével. A vegyes lében a kiindulási 56,46 mg/100ml-es érték hat hét elteltével 119,68 mg/100ml-re, a prebiotikummal kiegészített lénél 34,26 mg/100ml-ről 108,56 mg/100ml-re nőtt. Hasonlóan a három törzs 24 órás fermentációját követően mért értékekhez, a tárolási kísérlet során is az elméleti

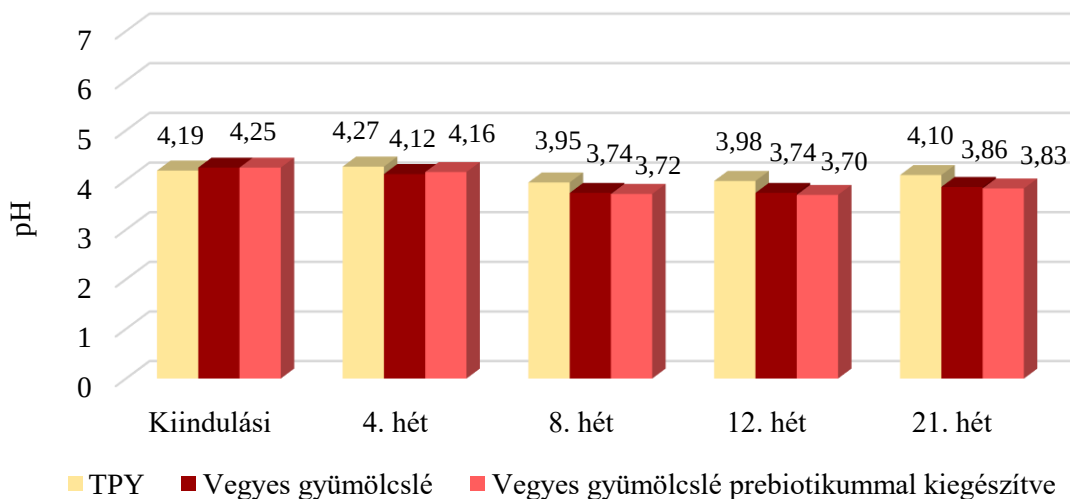
mólaránytól eltérő mértékű savtermelést tapasztaltam. Ebben az esetben is nagyobb arányban keletkezett tejsav, mint ecetsav.

A szobahőmérsékleten történő tárolás eredményeit vizsgálva azt tapasztaltam, hogy összességében a baktériumok nagyobb mértékű anyagcserét folytattak a gyümölcs alapú tápközegekben, mint a TPY táplevesben. Ez összefüggésben áll azzal, hogy míg a gyümölcslevekben volt maradék cukor, addig a TPY táplevesben nem. A baktériumok túlélésének szempontjából azonban a gyümölcs alapúak kedvezőtlenebbnek bizonyultak, mint a TPY tápközeg. Továbbá megállapítható, hogy a hozzáadott prebiotikum nem segítette számottevően a baktériumok túlélését, azonban az érzékszervi jellemzőket kedvezően befolyásolta.

### 5.3.2. A pH és a sejtszámok alakulása, valamint a minták szerves sav és szénhidráttartalma hűtött körülmények között

Hűtött körülmények között a kísérletsorozatot 21 héten keresztül végeztem, mialatt nyomon követtem a pH értékek és a sejtszámok alakulását, valamint mértem a minták szerves sav és szénhidráttartalmát.

A pH értékek alakulását a **10.ábrán** szemléltettem.

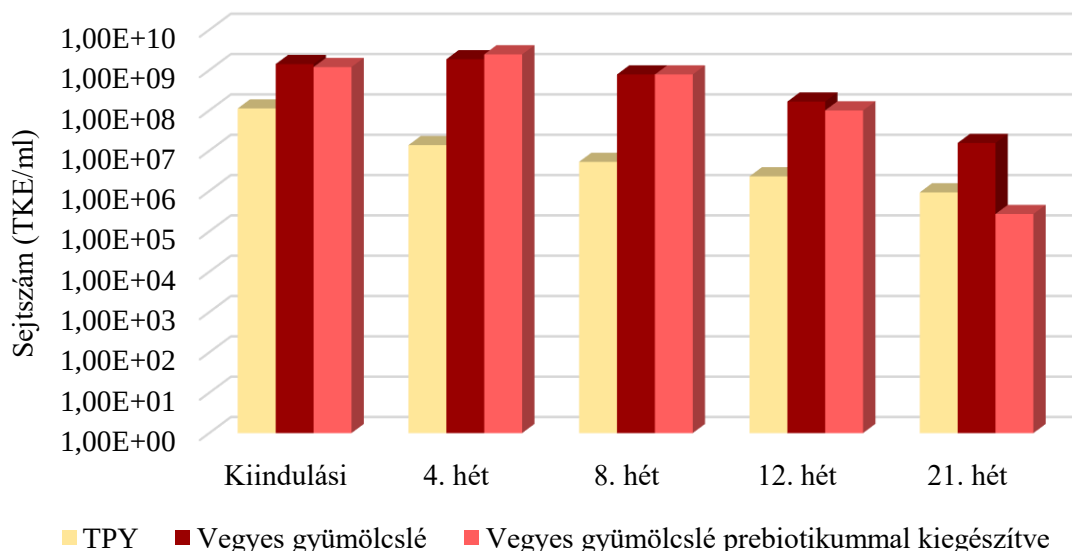


**10.ábra:** pH értékek alakulása *B. longum* DSM 16603 törzsszel fermentált TPY tápközeg és vegyes gyümölcslevek hűtött körülmények között történő tárolása során

A **10.ábrát** megfigyelve látható, hogy a TPY tápközeges minták esetében igen kismértékű változások figyelhetők meg, a kiindulási pH 4,19 a 21. hétre pH 4,10-ra csökkent. A vegyes gyümölcsle esetében az első nyolc hétben a pH a kiindulási 4,25-os értékről, pH 3,74-ra csökkent, majd a 12. héttől kezdődően növekedés figyelhető meg, a 3,74-os pH érték 3,86-ra nőtt. A prebiotikummal kiegészített minta esetében is hasonló

eredményeket tapasztaltam, a kiindulási 4,25-os pH érték a 12. hétre 3,70-ra csökkent, majd a 21. héten mért pH érték 3,83 volt. A pH értékek növekedése a baktériumok pusztulására utalhat.

A tárolás során vett mintákból meghatározott sejtszám értékek alakulását a **11.ábrán** szemléltettem.



**11.ábra:** Sejtszámok alakulása *B. longum* DSM 16603 törzsszel fermentált TPY tápközeg és vegyes gyümölcslevek hűtött körülmények között történő tárolása során

A **11.ábrát** vizsgálva látható, hogy a TPY tápközeges minták esetében a sejtszámok folyamatosan csökkentek, a kiinduláskor  $1,12 \cdot 10^8$  TKE/ml-t a 21. hét végére  $9,30 \cdot 10^5$  TKE/ml-t mértem. A gyümölcs alapú minták esetében jelentősen nagyobb sejtszám értékeket mértem, mint a TPY tápközeges mintáknál. A vegyes gyümölcsleiben a kiindulási  $1,41 \cdot 10^9$  TKE/ml sejtszám a 21. hét végére  $1,56 \cdot 10^7$  TKE/ml-re csökkent. A prebiotikummal kiegészített mintáknál a kiindulási  $1,19 \cdot 10^9$  TKE/ml egészen a 12. hétig fokozatosan, majd a 21. héten jelentős mértékben csökkent, ekkor  $2,70 \cdot 10^5$  TKE/ml-es sejtszámot határoztam meg.

A 21. héten a vegyes gyümölcsleiben mért sejtszám érték  $10^7$  TKE/ml nagyságrendű, így megállapítható, hogy a WHO által meghatározott kritériumot figyelembe véve, a *Bifidobacterium longum* DSM 16603 törzsszel fermentált vegyes gyümölcsle hűtött körülmények között körülbelül 21 hétig tárolható. Azonban a prebiotikummal kiegészített gyümölcsle a kapott eredmények alapján rövidebb ideig tartható el.

A tárolási kísérlet során megmértem a minták szerves sav és szénhidráttartalmát. A kapott eredményeket a **10.táblázatban** összegeztem.

**10.táblázat:** *B. longum* DSM 16603 törzzsel fermentált TPY tápközeget és vegyes gyümölcslevek szerves sav és szénhidrát tartalma hűtött körülmények között történő tárolás során

|                                              | Szénhidráttartalom |                |        |         | Szerves sav tartalom |         |
|----------------------------------------------|--------------------|----------------|--------|---------|----------------------|---------|
|                                              | Tri-szacharidok    | Di-szacharidok | Glükóz | Fruktóz | Tejsav               | Ecetsav |
|                                              | g/100 ml           |                |        |         | mg/100 ml            |         |
| TPY                                          |                    |                |        |         |                      |         |
| Kiindulási                                   | -                  | -              | 0,08   | -       | 17,31                | 6,67    |
| 4. hét                                       | -                  | -              | 0,02   | -       | 25,76                | 11,76   |
| 8. hét                                       | -                  | -              | 0,02   | -       | 27,97                | 32,06   |
| 12. hét                                      | -                  | -              | 0,02   | -       | 29,18                | 19,16   |
| 21. hét                                      | -                  | -              | 0,03   | -       | 30,13                | 14,40   |
| Vegyes gyümölcslé                            |                    |                |        |         |                      |         |
| Kiindulási                                   | 0,02               | 1,75           | 2,53   | 3,17    | 56,46                | 11,07   |
| 4. hét                                       | 0,02               | 1,73           | 2,41   | 3,68    | 64,82                | 12,10   |
| 8. hét                                       | 0,01               | 1,35           | 1,88   | 2,84    | 55,19                | 8,77    |
| 12. hét                                      | 0,02               | 1,56           | 2,17   | 3,29    | 67,04                | 12,67   |
| 21. hét                                      | 0,02               | 2,12           | 2,92   | 4,37    | 84,90                | 17,04   |
| Vegyes gyümölcslé prebiotikummal kiegészítve |                    |                |        |         |                      |         |
| Kiindulási                                   | 0,04               | 1,11           | 1,62   | 2,25    | 34,26                | 4,79    |
| 4. hét                                       | 0,02               | 1,84           | 2,58   | 3,93    | 61,99                | 1,40    |
| 8. hét                                       | 0,02               | 1,46           | 2,02   | 3,05    | 54,46                | 4,78    |
| 12. hét                                      | 0,02               | 1,93           | 2,65   | 3,94    | 73,92                | 8,96    |
| 21. hét                                      | 0,02               | 2,19           | 3,01   | 4,47    | 81,78                | 5,30    |

A 10.táblázatban szereplő eredményeket tekintve látható, hogy a mért szénhidrát koncentrációk mindhárom beállítás esetében növekedtek, amely a szobahőmérsékleten történő tároláshoz hasonlóan, az összetett szénhidrátok lebontásából következik. A savtermelést vizsgálva látható, hogy a szobahőmérsékleten történő tároláshoz hasonlóan, 21 hét elteltével a vegyes gyümölcslében jelentősen nagyobb mennyiségű, 17,04 mg/100ml ecetsav van jelen, mint a prebiotikummal kiegészített mintában, amelyben 5,30 mg/100ml-t mértem. Jelen esetben is folyamatosan növekedett a tejsav koncentráció, a vegyes gyümölcslében a kiindulási 56,46 mg/100ml a 21. hét végére 84,90 mg/ml-re, a prebiotikummal kiegészített lében 34,26 mg/100ml-ről 81,78 mg/100ml-re nőtt. A kapott eredményeim alapján jelen esetben is megállapítható, hogy a baktériumok nagyobb arányban termeltek tejsavat, mint ecetsavat.



Hasonlóan a szobahőmérsékleten tapasztaltakhoz, a hűtött körülmények között történő tárolásnál is elmondható, hogy a gyümölcs alapú tápközegek megfelelőnek bizonyultak a baktériumok számára, anyagszerjük fokozottabb, mint a TPY tápközegek esetében. Továbbá itt is megállapítható, hogy a hozzáadott prebiotikum nem segítette számottevően a baktériumok túlélését, a gyümölcs elegendő védelmet nyújtott számukra.

Nguyen és munkatársai (2019) 24 órás fermentációt követően 4°C-on tárolták az általuk vizsgált ananászleveket. 2 hónapos tárolási kísérletük során, az általam 8. héten mértékhez hasonló nagyságrendű sejtszámokat tapasztaltak. *B. longum* Bb-12 törzset vizsgálva  $10^8$ - $10^9$  TKE/ml-es, míg *L. acidophilus* La5 és *L. plantarum* 299v törzsek esetén  $10^9$ - $10^{10}$  TKE/ml-es sejtszámokat mértek mind prebiotikummal történő kiegészítéssel, mind anélkül. Eredményeik alapján megállapították, hogy prebiotikus frukto-oligoszacharid hozzáadása a gyümölcslehez nem volt hatással a baktériumok életképességére, valamint nem befolyásolta a pH-t sem, amely megegyezik az általam tapasztaltakkal.

## 6. ÖSSZEFOGLALÁS

Napjainkban egyre nagyobb teret hódítanak a funkcionális élelmiszerek, amelyek között is a probiotikusak a legismertebbek, hiszen számos jótékony hatást fejtenek ki a szervezetre. A jelenleg legnagyobb számban kapható tej alapú probiotikus termékek azonban nem mindenki számára megfelelőek. Az allergiás betegek, valamint a speciális étrendet követők csak a növényi alapú probiotikus élelmiszereket fogyaszthatják. Mindezek alapján döntöttem úgy, hogy kutatómunkám során probiotikus *Bifidobacterium* törzsekkel fermentált vegyes gyümölcsleveket állítok elő és vizsgálom a baktériumok életképességét, valamint a gyümölcslevek beltartalmi paramétereit.

Kísérleteim során három probiotikus törzset alkalmaztam: *B. longum* DSM 16603, *B. lactis* Lafti<sup>®</sup>B94 és *B. lactis* Bb-12, valamint a tolerancia vizsgálatok és a tárolási kísérletek során prebiotikumként Raftilin frukto-oligoszacharidot használtam fel. Alapvető célom volt megvizsgálni, hogy az alma, meggy és szilva keverékéből készült vegyes gyümölcslé megfelelő környezetet jelent-e a probiotikumok számára, valamint a hozzáadott prebiotikum befolyásolja-e életképességüket, így a termék eltarthatóságát különböző hőmérsékleten megvalósított tárolási folyamat során. Vizsgálataim során figyelemmel kísértem a sejtszám és a pH értékek alakulását, valamint mintáim szerves sav és szénhidráttartalmát.

Munkám kezdetén az inokulum koncentráció hatását vizsgáltam a különböző törzsek esetén a vegyes gyümölcslevek fermentációjára. Az 1%-os és 5%-os inokulummal indított fermentációk esetén eltérő eredményeket kaptam. Az 1%-os beoltásnál elhúzódott a fermentáció, 48 órára volt szüksége a baktériumoknak a tápközeghez történő adaptálódáshoz. Az 5%-os inokulum tenyésztéssel indított fermentációt vizsgálva a *B. longum* DSM 16603 és a *B. lactis* Lafti<sup>®</sup>B94 törzsek esetén a kezdeti  $10^6$  TKE/ml-es sejtszámok 24 órát követően  $10^9$  TKE/ml-re emelkedtek, míg a pH értékek 4,10-4,28 körülre csökkentek. Ezek alapján elmondható, hogy megfelelő szubsztrátumnak bizonyult a gyümölcslé a két törzs számára, míg a *B. lactis* Bb-12 törzs esetén nem tapasztaltam jelentős mértékű sejtszám növekedést, valamint pH csökkenést, így megállapítható, hogy számára nem voltak kedvezőek a körülmények. Az elméleti molaránytól eltérő mértékű szerves sav termelést tapasztaltam, nagyobb arányban keletkezett tejsav, mint ecetsav, amely kedvezően hatott a gyümölcslé érzékszervi jellemzőire. Az általam vizsgált két törzs megfelelő mértékben hasznosította a gyümölcsökben lévő szénhidrátokat, közülük is legnagyobb mértékben a fruktózt. A kapott eredményeim alapján a *B. longum* DSM 16603 törzset választottam ki a további vizsgálatok elvégzésére, amelyeket 5%-os inokulummal indítottam.

Elvégeztem a vegyes gyümölcsleiben felszaporított törzs gyomor- és epesavval szembeni toleranciájának vizsgálatát 3 órás kezelés során. Prebiotikummal kiegészített vegyes gyümölcslevet is készítettem annak érdekében, hogy esetleges védő hatását igazolni tudjam. A legnagyobb változás az első órában történt, majd azt követően, míg a gyomorsavas kezelés előrehaladtával kismértékben csökkentek a sejtszámok, addig az epesavas kezelés esetén inkább stagnáltak az értékek. A sejtszám értékek vizsgálatakor nem tapasztaltam jelentős eltérést a vegyes gyümölcslé és a prebiotikummal kiegészített változata között, mindkét esetben  $10^6$ - $10^7$  TKE/ml-es értékeket mértem mind gyomorsavas, mind epesavas kezelést követően. Mindezek alapján megállapítható, hogy a prebiotikum jelenléte nem fokozta a probiotikum életképességét, maga a gyümölcs elegendő védelmet jelentett számára.

Végül tárolási kísérletet végeztem annak érdekében, hogy megvizsgáljam a probiotikumok túlélőképességét, így a gyümölcslevek eltarthatóságát, valamint a hozzáadott prebiotikum esetleges védő hatását. 24 órás fermentációt követően szobahőmérsékleten ( $25^{\circ}\text{C}$ ) 6 hétig, hűtött körülmények között ( $4^{\circ}\text{C}$ ) 21 hétig tároltam mintáimat. A kezdeti pH 4,25 érték  $25^{\circ}\text{C}$ -on 6 hét elteltével pH 3,54-ra csökkent,  $4^{\circ}\text{C}$ -on 21 hét elteltével pH 3,8-ra. Számottevő különbséget nem tapasztaltam prebiotikumos kiegészítés mellett. A kiindulási  $10^9$  TKE/ml-es sejtszám a vegyes gyümölcslé esetében  $25^{\circ}\text{C}$ -on  $10^6$  TKE/ml-re,  $4^{\circ}\text{C}$ -on  $10^7$  TKE/ml-re csökkent a tárolási idő végére, míg a prebiotikummal kiegészített minták esetében  $10^5$  TKE/ml-es sejtszám értékeket mértem, amely jelentősen elmaradt a kiegészítetlen mintáknál mértéktől. A tárolás alatti szénhidrát hasznosítás eredményeként megállapítottam, hogy a prebiotikummal kiegészített mintákban jelentősen kevesebb mennyiségű ecetsav keletkezett, mint a kiegészítetlen gyümölcslevekben, amely kedvezően befolyásolta az érzékszervi jellemzőket, kóstoláskor kevésbé volt érezhető ecetes íz és illat.

Eredményeimet összefoglalva látható, hogy az alma, meggy és szilva keverékéből készült gyümölcslé megfelelő tápanyagforrást jelentett a *B. longum* DSM 16603 törzs számára. Megállapítottam, hogy a fermentált vegyes gyümölcslé szobahőmérsékleten 6 hétig, hűtött körülmények között 21 hétig tartható el úgy, hogy megőrzi a minimálisan elvárt  $10^6$  TKE/ml-es sejtszámot. A kísérleteim során alkalmazott prebiotikum nem segítette számottevően a probiotikumok túlélését, azonban kedvezően befolyásolta a gyümölcslé érzékszervi jellemzőit.

Kísérleteim eredményei alapot szolgáltathatnak egy olyan növényi alapú probiotikus élelmiszer kifejlesztéséhez, amely hűtött körülmények között akár több hónapig is eltartható, valamint minden fogyasztói réteg számára megfelelő alternatívát jelent a tej alapú termékekkel szemben.

## 7. IRODALMI HIVATKOZÁSOK

- Alessandri G., Van Sinderen D., Ventura M. (2021): The genus *Bifidobacterium*: from genomics to functionality of an important component of the mammalian gut microbiota. *Computational and Structural Biotechnology Journal* 19: 1472-1487  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.03.006>
- Aspri M., Papademas P., Tsaltas D. (2020): Review on Non-Dairy Probiotics and Their Use in Non-Dairy Based Products. *Fermentation* 6(1), 30  
DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation6010030>
- Barcs J., Jenes B. (2017): Funkcionális élelmiszerek növekvő népszerűsége – a hazai cereáliapiac fogyasztói megítélése. *The Hungarian Journal of Nutrition Marketing*. IV. évfolyam, 2017/1-2. szám.
- Bartal A. (2015): Funkcionális élelmiszerek hatása a betegségek megelőzésére. In: Horváth L (ed.): *Ingenia Hungarica I. ELTE Eötvös József Collegium, Budapest*, pp. 17-31
- Borgonovi T. F., Virgolin L. B., Janzanti N. S., Casarotti S. N., Penna A. L. B. (2022): Fruit bioactive compounds: Effect on lactic acid bacteria and on intestinal microbiota. *Food Research International* 161: 111809 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111809>
- Bujna E., Farkas N. A., Tran A. M., Dam M. S., Nguyen Q. D. (2018): Lactic acid fermentation of apricot juice by mono- and mixed cultures of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Food SCI Biotechnol* 27(2): 547-554  
DOI: <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0269-x>
- Chai M. (2019): Fruit-based functional food. Chapter 2. In: Galanakis C. M. (ed.): *The Role of Alternative and Innovative Food Ingredients and Products in Consumer Wellness*. pp. 35-72 ISBN:978-0-12-816453-2 DOI: [doi.org/10.1016/B978-0-12-816453-2.00002-4](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816453-2.00002-4)
- Csapó J., Albert Cs., Csapóné Kiss Zs. (2016): Funkcionális élelmiszerek. Scientia Kiadó, Kolozsvár
- Csiki Z. (2008): A pre-, probiotikumok és az egészséges élet. In: Nagy J., Schmidt J., Jávorski A. (ed.): *A jövő élelmiszerei és az egészség*. Center-Print nyomda, Debrecen, pp. 179-196 ISBN: 978-963-9732-36-0
- Dalal R., McGee R. G.I., Riordan S., M., Webster A. C. (2017): Probiotics for people with hepatic encephalopathy. *Cochrane Database of Systematic Reviews* (2): CD008716  
DOI: [10.1002/14651858.CD008716.pub3](https://doi.org/10.1002/14651858.CD008716.pub3)

- Deák T., Kiskó G., Maráz A., Mohácsiné Farkas Cs. (2006): Élelmiszer-mikrobiológia. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- Demeter P. (2005): A probiotikumok alkalmazásának lehetőségei emésztőszervi betegségekben. *LAM* 16(1): 41-47.
- Desjardins M. L., Roy D., Toupin C. (1990): Uncoupling of Growth and Acids Production in *Bifidobacterium* spp. *Journal of Dairy Science* 73: 1478-1484  
DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)78813-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)78813-3)
- Di Cagno R., Coda R., De Angelis M., Gobbetti M. (2013): Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiology* 33: 1-10  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2012.09.003>
- Elsen L. W. J., Garssen J., Burcelin R., Verhasselt V. (2019): Shaping the Gut Microbiota by Breastfeeding: The Gateway to Allergy Prevention? *Frontiers in Pediatrics* Volume 7 Article 47 DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00047>
- Enomoto T., Sowa M., Nishimori K., Shimazu S., Yoshida A., Yamada K., Furukawa F., Yanagisawa N., Iwabuchi N., Odamaki T., Abe F., Nakayama J., Xiao J. (2014): Effects of Bifidobacterial Supplementation to Pregnant Women and Infants in the Prevention of Allergy Development in Infants and on Fecal Microbiota. *Allergology International* 63(4): 575-585 DOI: <https://doi.org/10.2332/allergolint.13-OA-0683>
- Fekete E., Allain T., Siddiq A., Sosnowski O., Buret A. G. (2021): *Giardia* spp. and the Gut Microbiota: Dangerous Liaisons. *Frontiers in Microbiology* 11: 618106  
DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.618106>
- Figler M. (2004): A felnőttkori bélflóra és metabolikus aktivitása, a probiotikumok. In: Szakály S. (ed.): Probiotikumok és humánegészség. G-Print Nyomda, Budapest pp. 29-41
- Fijan S. (2014): Microorganisms with Claimed Probiotic Properties: An Overview of Recent Literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 11(5): 4745-4767 DOI: 10.3390/ijerph110504745
- Guaraldi F., Salvatori G. (2012): Effect of breast and formula feeding on gut microbiota shaping in newborns. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* Volume 2 Article 94 DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00094>

- Havas P., Kun Sz., Styevkó G., Slacanac V., Hardi J., Rezessy-Szabó J. (2014): Fruit and Vegetable Juice Fermentation with Bifidobacteria. *Acta Alimentaria*, Vol. 43 (Suppl.), pp. 64-72 (2014) DOI: <https://doi.org/10.1556/aalim.2014.4444>
- Holzapfel W. H., Schillinger U. (2002): Introduction to pre- and probiotics. *Food Research International* 35: 109-116
- Hoover D. G. (2014): Bifidobacterium. In: Batt C. A., Tortorello M. L. (ed.): Encyclopedia of Food Microbiology. Second Edition. Volume 1. Academic Press. pp. 216-222 ISBN: 978-0-12-384730-0
- Kechagia M., Basoulis D., Konstantopoulou S., Dimitriadi D., Gyftopoulou K., Skarmoutsou N., Fakiri E. M. (2013): Health Benefits of Probiotics: A Review. *ISRN Nutrition* 2013:481651 DOI: <https://doi.org/10.5402/2013/481651>
- Kumar H., Salminen S., Verhagen H., Rowland I., Heimbach J., Banares S., Young T., Nomoto K., Lalonde M. (2015): Novel probiotics and prebiotics: road to the market. *Current Opinion in Biotechnology*. 32: 99-103  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cobio.2014.11.021>
- Lillo-Pérez S., Guerra-Valle M., Orellana-Palma P., Petzold G. (2021): Probiotics in fruit and vegetable matrices: Opportunities for nondairy consumers. *LWT – Food Science and Technology* 151: 112106 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112106>
- Lopez-Santamarina A., Gonzalez E., Lamas A., Mondragon A. C., Regal P., Miranda J. M. (2021): Probiotics as a Possible Strategy for the Prevention and Treatment of Allergies. A Narrative Review. *Foods* 10(4): 701 DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10040701>
- Madai H. (2008): A funkcionális élelmiszerek előállítása, fogyasztása és piaca. In: Nagy J., Schmidt J., Jávör A. (ed.): A jövő élelmiszerei és az egészség. Center-Print nyomda, Debrecen, pp. 197-211 ISBN: 978-963-9732-36-0
- Maurya A. P., Chauhan J., Yadav D. K., Gangwar R., Maurya V. K., (2021): Nutraceuticals and their impact on human health. Chapter 11. In: Egbuna C., Mishra A. P., Goyal M. R. (ed.): Preparation of Phytopharmaceuticals for the Management of Disorders. pp. 229-254 ISBN: 978-0-12-820284-5 DOI: <https://doi.org/10.1016/C2019-0-01420-3>
- Mohanty D., Misra S., Mohapatra S., Sahu P. S. (2018): Prebiotics and synbiotics: Recent concepts in nutrition. *Food Bioscience* 26: 152-160  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.10.008>

- Mojikon F. D., Kasimin M. E., Molujin A. M., Gansau J. A., Jawan R. (2022): Probiotication of Nutritious Fruit and Vegetable Juices: An Alternative to Dairy-Based Probiotic Functional Products. *Nutrients* 14: 3457. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu14173457>
- Nazir M., Arif S., Khan R. S., Nazir W., Khalid N., Maqsood S. (2019): Opportunities and challenges for functional and medicinal beverages: Current and future trends. *Trends in Food Science & Technology* 88: 513-526 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.011>
- Nguyen B. T., Bujna E., Fekete N., Tran A. T. M., Rezessy-Szabo J. M., Prasad R., Nguyen Q. D. (2019): Probiotic Beverage From Pineapple Juice Fermented With *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Frontiers in Nutrition* 6: 54  
DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00054>
- Nualkaekul S., Salmeron I., Charalampopoulos D. (2011): Investigation of the factors influencing the survival of *Bifidobacterium longum* in model acidic solutions and fruit juices. *Food Chemistry* 129: 1037-1044 DOI: [doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.071](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.071)
- Oak S. J., Jha R. (2019): The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 59(11): 1675-1683  
DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1425977>
- Panghal A., Janghu S., Virkar K., Gat Y., Kumar V., Chhikara N. (2018): Potential Non-Dairy Probiotic Products – A Healthy Approach. *Food Bioscience* Vol. 21: 80-89  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.12.003>
- Patel A. R. (2017): Probiotic fruit and vegetable juices- recent advances and future perspective. *International Food Research Journal* 24(5): 1850-1857
- Perricone M., Bevilacqua A., Altieri C., Sinigaglia M., Corbo M. R. (2015): Challenges for the Production of Probiotic Fruit Juices. *Beverages* 1(2): 95-103  
DOI: <https://doi.org/10.3390/beverages1020095>
- Perricone M., Corbo M. R., Sinigaglia M., Speranza B., Bevilacqua A. (2014): Viability of *Lactobacillus reuteri* in fruit juices. *Journal of Functional Foods* 10: 421-426  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.020>
- Pitlik E. (2007): A probiotikumok. Biofil Egésségkönyvek. Anonymus Kiadó, Budapest  
ISBN:978-963-7280-10-8

- Plessas S. (2022): Editorial: Innovations in Functional Food Production: Application of Fruit and Vegetable Juices as Vehicles for Probiotic Delivery. *Frontiers in Microbiology* 13: 854705 DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.854705>
- Pokusaeva K., Fitzgerald G. F., Van Sinderen D. (2011): Carbohydrate metabolism in Bifidobacteria. *Genes & Nutrition* 6(3): 285-306 DOI: 10.1007/s12263-010-0206-6
- Polgár M. (2004): A bélflóra kialakulása újszülöttekben, alakulásának és alakításának jelentősége csecsemő- és gyermekkorban. In: Szakály S. (ed.): Probiotikumok és humánegészség. G-Print Nyomda, Budapest pp. 18-28
- Pop O. L., Socaci S. A., Suharoschi R., Vodnar D. C. (2019): Pro and Prebiotics foods that modulate human health. Chapter 10. In: Galanakis C. M. (ed.): The Role of Alternative and Innovative Food Ingredients and Products in Consumer Wellness. pp. 283-313 ISBN:978-0-12-816453-2 DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816453-2.00010-3>
- Praitano M., Iacono S., Francavilla R. (2012): Probiotics and *Helicobacter pylori* infection. *Medicina Universitaria* 14 (57): 217-223
- Rodríguez L. G. R., Gasga V. M. Z., Pescuma M., Van Nieuwenhove C., Mozzi F., Burgos J. A. S. (2021): Fruits and fruit by-products as sources of bioactive compounds. Benefits and trends of lactic acid fermentation in the development of novel fruit-based functional beverages. *Food Research International* 140: 109854 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109854>
- Saarela M., Alakomi H. L., Matto J., Ahonen A. M., Puhakka A., Tynkkynen S. (2010): Improving the storage stability of *Bifidobacterium breve* in low pH fruit juice. *International Journal of Food Microbiology* 149: 106-110 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.12.002>
- Septembre-Malaterre A., Remize F., Poucheret P. (2018): Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation. *Food Research International* 104: 86-99 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.031>
- Szakály S. (2004): A probiotikumokkal kapcsolatos alapismeretek. In: Szakály S. (ed.): Probiotikumok és humánegészség. G-Print Nyomda, Budapest pp. 4-17



- Szakály Z., Kiss M., Jasák H. (2014): Funkcionális élelmiszerek, fogyasztói attitűdök és személyre szabott táplálkozás. *The Hungarian Journal of Nutrition Marketing*. I. évfolyam, 2014/1-2. szám
- Tamura Z. (1983): Nutriology of Bifidobacteria. *Bifidobacteria Microflora* Vol. 2(1): 3-16
- Terpou A., Papadaki A., Lappa I. K., Kachrimanidou V., Bosnea L. A., Kopsahelis N. (2019): Probiotics in Food Systems: Significance and Emerging Strategies Towards Improved Viability and Delivery of Enhanced Beneficial Value. *Nutrients* 11(7): 1591 DOI: <https://doi.org/10.3390%2Fnu11071591>
- Trowell H. (1978): The development of the concept of dietary fiber in human nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition* 31(10): 3S-11S DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/31.10.S3>
- Vasiljevic T., Shah N. P. (2008): Probiotics – From Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal* 18: 714-728 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.004>
- Vasudha S., Mishra H. N. (2013): Non dairy probiotic beverages. *International Food Research Journal* 20(1): 7-15
- Vinderola G., Sanders M. E., Salmien S. (2022): The Concept of Postbiotics. *Foods* 11(8): 1077 DOI: <https://doi.org/10.3390%2Ffoods11081077>

### **Internetes források:**

- Internet 1. Bita Biosa®  
<https://www.biosa.co/vitabiosa>
- Internet 2. Proviva®  
<https://www.proviva.se/vara-produkter/>
- Internet 3. Hey-ho szilvalé termékleírás és kép  
<https://bevasarlas.tesco.hu/groceries/hu-HU/products/2004120760858>
- Internet 4. Solevita almalé termékleírás és kép  
<https://balticfresh.com/lifestyle/way-of-life/vegetarian/100-apple-juice-solevita-11>
- Internet 5. Happy Fruits meggylé termékleírás és kép  
<https://www.roksh.com/termekek/gyumolcslevek2/happy-fruits-meggynekter-11>

## Köszönetnyilvánítás

Köszönetet szeretnék mondani témavezetőmnek, Dr. Bujna Erika egyetemi docensnek szakdolgozatom elkészítésében nyújtott rengeteg segítségéért, kitartó türelméért és biztatásáért.

Ez a dolgozat nem születhetett volna meg tanácsai és hozzáértése nélkül.

Továbbá köszönöm a Biomérnök és Erjedéssipari Technológia Tanszék dolgozóinak, hogy a munkám során felmerülő problémákkal hozzájuk is fordulhattam.

## NYILATKOZAT

### a szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

**A hallgató neve:** Győri Kata  
**A Hallgató Neptun kódja:** L5NL2U  
**A dolgozat címe:** Probiotikus *Bifidobacterium* törzsekkel fermentált vegyes gyümölcslevek vizsgálata  
**A megjelenés éve:** 2023  
**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.

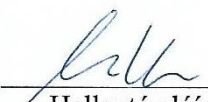
Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a Záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

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 tulajdonkezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

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

Budapest, 2023. április 28.

  
Hallgató aláírása

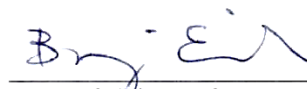
## KONZULTÁCIÓS NYILATKOZAT

**Győri Kata** (Neptun azonosítója L5NL2U) 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<sup>1</sup>.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem<sup>\*2</sup>

Kelt: Budapest, 2023. április 28.

  
Belső konzulens

---

<sup>1</sup> A megfelelő aláhúzendó.

<sup>2</sup> A megfelelő aláhúzendó.