

SZAKDOLGOZAT

FÜLÖP SZENDE SZAKDOLGOZAT

Fülöp Szende

Budapest

2023

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet

Szak neve: BSc Biomérnöki

Modul neve: Alkalmazott biotechnológia

Modul szerinti tanszék: Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék

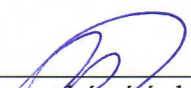
Szakedolgozat készítés helye: Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék

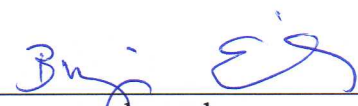
Hallgató: Fülöp Szende

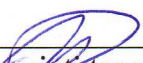
A szakedolgozat címe: **Probiotikumokkal fermentált szilva alapú gyümölcslevek előállítása és vizsgálata**

Konzulens: Dr. Bujna Erika, egyetemi docens

Beadás dátuma: 2023. május 3.


szakedolgozat készítés helyének vezetője
Dr. Nguyen Duc Quang


konzulens
Dr. Bujna Erika


modul szerinti tanszék vezetője
Dr. Nguyen Duc Quang

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet

Biomérnök és Erjedéssipari Technológia Tanszék



Probiotikumokkal fermentált szilva alapú gyümölcslevek
előállítása

Fülöp Szende

Budapest

2023

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS.....	1
2. MUNKA CÉLJA	3
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	4
3.1. Funkcionális élelmiszerek.....	4
3.2. Probiotikumok.....	5
3.3. Prebiotikumok.....	8
3.4. A szilva, mint antioxidáns.....	11
3.5. Fermentált gyümölcslevek.....	14
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	16
4.1. Felhasznált mikroorganizmusok.....	16
4.2. Felhasznált kórokozó mikroorganizmusok.....	16
4.3. Tápközegek.....	17
4.3.1. Laboratóriumi tápközegek.....	17
4.3.2. Szilva alapú tápközeg.....	18
4.4. Alkalmazott módszerek.....	20
4.4.1. Törzsfenntartás.....	20
4.4.2. Szilvalé fermentáció.....	20
4.4.3. pH mérés.....	20
4.4.4. Élősejtszám meghatározás.....	20
4.4.5. Antimikrobás anyagok kimutatása.....	21
4.4.6. Titrálható savtartalom.....	21
4.4.7. Antioxidáns- aktivitás mérése TPC módszerrel.....	21
5. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK.....	23
5.1. Szilva alapú tápközeg fermentálhatóságának vizsgálata probiotikus <i>Lactobacillus</i> és <i>Bifidobacterium</i> törzsekkel.....	23
5.1.1. pH értékek alakulása.....	23
5.1.2. Sejtszám alakulása.....	24
5.2. Szilvalé vegyes kultúras fermentációja.....	25
5.3. Probiotikus <i>Lactobacillus</i> és <i>Bifidobacterium</i> törzsek antimikrobás anyag termelése.....	27
5.4. Tárolási kísérlet.....	31
5.4.1. Szobahőmérsékleten történő tárolás eredményei.....	31
5.4.1.1 pH alakulása.....	31
5.4.1.2 Sejtszám alakulása.....	32

5.4.1.3	Titrálható savtartalom.....	33
5.4.1.4	Összes polifenol-tartalom meghatározás eredményei	34
5.4.2.	Hűtött körülmények között történő tárolás eredményei.....	36
5.4.2.1	Sejtszám alakulása	36
5.4.2.2	Titrálható savtartalom mérése.....	37
5.4.2.3	Összes polifenol-tartalom meghatározás eredményei	37
6.	ÖSSZEFOGLALÁS	40
7.	FELHASZNÁLT IRODALOM	43

FÜLÖP SZENDE SZAKDOLGOZAT

1. BEVEZETÉS

Napjainkban jelentős szerepet töltenek be a táplálkozásunkban a funkcionális élelmiszerek, mivel egyre fontosabb az emberek számára a tudatos táplálkozás. Egyre több élelmiszer tartalmaz olyan összetevőket, melyeknek egészség megőrző hatásai vannak. Ezek az élelmiszerek hozzájárulnak a mentális jóllét állapotához és csökkentik a megbetegedések kockázatát. Az egészséges táplálkozás alapja, hogy az emberi szervezet számára fontos tápanyagokból megfelelő mennyiséget fogyasszunk. Az egyik legelterjedtebb ilyen élelmiszer csoport, a probiotikumot tartalmazó termékek, melyekhez leggyakrabban *Bifidobacterium*-kat és *Lactobacillus*-kat alkalmaznak.

A probiotikumot tartalmazó élelmiszerek piacán, a legelterjedtebbek a tej alapú termékek. A fermentált tejtermékek fehérje, vitamin és ásványi anyagai megfelelő környezetet biztosítanak a probiotikus baktériumok szaporodásához, melyek gátolják a káros, toxintermelő baktériumok tevékenységét a bélrendszerben. Azok számára, akik valamilyen egészségügyi okból kifolyólag, mint tejfehérje allergia, laktóztolerancia vagy személyes döntésük miatt, mint a vegetáriánus életmód, nem fogyaszthatják az említett tej alapú élelmiszereket, azoknak alternatív megoldást nyújt a nem tej alapú probiotikus élelmiszerek fogyasztása. Ilyen típusú készítmények lehetnek gyümölcs-, zöldség-, gabona- és szója alapú probiotikus termékek. A gyümölcsök beltartalmi értékük alapján megfelelő tápközeget biztosítanak a probiotikus kultúrák növekedésére és életképességük fenntartására is, továbbá a belőlük készített probiotikus gyümölcsleveleknek jelentős szerepe van a táplálkozásban. Magas rost tartalmúak, fedezik a szervezet C-vitamin és karotin szükségletét, szénhidrát tartalmuk gyorsan felszívódik és hasznosul a szervezetben. A gyümölcsök egészségvédő hatását kutatások szerint egyre inkább kapcsolják az antioxidáns hatású polifenolos vegyületekhez.

Fontos szempont továbbá, hogy a tejtermékek és gyümölcslevek eltarthatósági ideje alatt hogyan alakul a probiotikus mikrobák száma. A termékeket úgy kell tartósítani, hogy tápértéke, érzékszervi tulajdonságai és a mikrobák életképessége fennmaradjon. A probiotikumokkal dúsított, vagy fermentált élelmiszereknek, megfelelő élő baktériumot kell tartalmaznia, ezért fontos a baktériumok magas túlélési arányának biztosítása a termék feldolgozása, tárolása és emésztése során.

A fent említett ismeretekre alapozva, szakdolgozatomban célul tűztem ki, különböző szilvalevek fermentálhatóságának, és a fermentált levekben probiotikus hatású *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsek életképességének vizsgálatát tárolás során.

FÜLÖP SZENDE SZAKDOLGOZAT

2. MUNKA CÉLJA

Az utóbbi néhány évtizedben jótékony hatásai miatt egyre ismertebbek és keresettebbek a funkcionális élelmiszerek. Közéjük tartoznak többek közt a probiotikumot tartalmazó termékek, melyek fenntartják a bélrendszer megfelelő egyensúlyát és hozzájárulnak a betegségek megelőzéséhez. A funkcionális és más fermentált élelmiszerekben a leggyakrabban használt probiotikumok közé tartoznak a *Lactobacillus*-ok és *Bifidobacterium*-ok, ezért esett a választásom az említett mikroorganizmusok vizsgálatára.

A szilvát már ősidők óta használják a gyógyászatban, mivel nagy mennyiségben tartalmaz antioxidáns hatású fenolos vegyületeket. Jótékony tulajdonsága révén tűztem ki célul, hogy kutató munkám során megvizsgálom hazai és külföldi kereskedelmi forgalomban lévő szilvalevek fermentálhatóságát probiotikus baktériumokkal. A gyümölcslevek megfelelő források a különböző kultúrák számára, de fontos, hogy a gyümölcslevek alacsony pH-értéke és a baktériumok savas környezethez való érzékenysége révén olyan törzseket alkalmazzunk, melyek bizonyos eltarthatósági időn keresztül életképesek maradnak.

Munkám során a következő célokat tűztem ki:

- ◁ Szilva alapú tápközeg fermentálhatóságának vizsgálata különböző probiotikus *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsekkel, a sejtszám, pH és titrálható sav követése.
- ◁ Kiválasztott törzsek maximális sejtszám eléréséhez szükséges idejének a meghatározása.
- ◁ Probiotikus *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsekkel fermentált szilvalevek antimikrobás hatásának vizsgálata különböző kórokozó mikroorganizmusokra.
- ◁ A fermentált szilvalevek teljes fenol tartalmának meghatározása.
- ◁ Életképesség vizsgálatok különböző körülmények között megvalósított tárolás során.
 - § szobahőmérsékleten
 - § hűtött körülmények között

Szakdolgozati munkámat a Magyar- Agrár és Élettudományi Egyetem, Biomérnök és Erjedéssipari Technológia Tanszékén végeztem.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. Funkcionális élelmiszerek

A funkcionális élelmiszernek nevezzük az ILSI Europe (International Life Science Institute) általi meghatározás szerint azt az élelmiszert, amelynek számos pozitív hatása van az élő szervezetre, így elengedhetetlenül kapcsolódik az egészség fenntartásához, az életminőség javításához és a betegségek kockázatának csökkentéséhez (Lehota – Komáromi, 2008). Ezek az élelmiszerek tartalmazhatnak rostokat melyek a vérnyomás szabályozásában, cukorbetegség megelőzésében és a székrekedések megakadályozásában segítenek. A vitaminok, és mikroelemek beépítése is egyre elterjedtebb az élelmiszeriparban, kismamák, gyerekek, idősek körében is egyre népszerűbb. Ilyen élelmiszerek továbbá a folsavval dúsított kenyér, a kalciummal dúsított Kaldi sajtok, illetve a szelénnek dúsított tej és tejtermékek. Fontosak továbbá a fehérjék, peptidek is, melyek a fogszuvasodás és csontritkulás megelőzésében vesznek részt (Piskóti és mtsai.). Ezek mellett, tartalmazhatnak ásványi anyagokat, oligoszacharidokat, telített zsírsavakat és tejsavbaktériumokat is. Vannak oligoszacharidok, melyek prebiotikumként a gasztrointesztinális rendszerbe jutva szelektíven támogatják az emberi szervezet számára jótékony mikroorganizmusok szaporodását, de egyben mérséklék a káros mikrobák elterjedését. A hagyományos élelmiszerek energia- és tápértéke mellett egészségvédő hatást fejtenek ki, illetve valamely összetevőjéből a megszokottnál kevesebbet tartalmaznak: például zsírt-, szénhidrátot-, illetve fehérjét. Az ilyen élelmiszerek gyártása során a hasznos komponensek koncentrációját növelik, illetve az élelmiszerre nem jellemző hasznos komponenssel dúsítják a termékeket. Az utóbbi időben egyre elterjedtebbek a probiotikus tejtermékek, azon belül is a joghurtok, vitaminokkal, kalciummal és ásványi anyagokkal dúsított termékek. Ezenkívül elterjedtek még a gyümölcslevek, üdítőitalok, a sütőipar és a gabonapelyhek piacán a vitaminokkal, ásványi anyagokkal és kalciummal dúsított termékek, csökkentett koleszterin tartalmú és növényi szterineekkel, valamint, vitaminokkal dúsított margarinkészítmények. Használják még olyan anyagokat, főként speciális fehérjéket, amelynél kolosztrumból vagy tejből készítenek egészségügyi problémák elkerülése érdekében (Csapó. és Albert, 2016).

Fehérjével való dúsításnál leginkább a tejet és a belőle készült termékeket és magas fehérjetartalmánál fogva a szóját használják. A tésztafélék dúsításánál emulgeátorokat és adalékanyagokat is használnak, és a transzglutamináz enzimet is alkalmazzák a megfelelő szerkezet kialakítása miatt. Funkcionális élelmiszerként alkalmaznak számos gyümölcs kivonatokból, gyümölcs-sűrítvényekből készült italokat, melyek tartalmaznak természetes antioxidánsokat, mikroelemeket, színyanyagokat, de mellette kalciummal, magnéziummal és karotinoidokkal dúsítják (Csapó és mtsai., 2016).

Összefoglalva tehát a funkcionális élelmiszerek jelentősége a hiányállapotok és a krónikus betegségek megelőzése, általános egészségügyi állapot javítása, betegséget követő regenerálódást segítő, étkezésből eredő tápanyagok hiányának pótlása, egyedi étrend biztosítása -fogyókúrához, diétához, speciális étrendhez. Ezeknél a funkcionális élelmiszereknél nagyon fontos figyelni:

- ◊ a megfelelő tápanyag -összetételre
- ◊ a kedvező emészthetőségre
- ◊ a megfelelő energiaszolgáltatásra
- ◊ az értékes fehérjetartalom növelésére (Fenyvessy és mtsai., 2008)

3.2. Probiotikumok

A funkcionális élelmiszerekkel kapcsolatos kutatások egyik dinamikusan fejlődő területe a probiotikus élelmiszerek tervezése és a probiotikumok fiziológiai hatásainak kimutatása, valamint a hatásmechanizmusukra vonatkozó tudományos bizonyítékok feltárása. A probiotikus baktériumokat tartalmazó élelmiszerek kínálata folyamatosan növekszik, viszont ezen élelmiszerek 80 %-át fermentált tejtermékek teszik ki (Kun, 2008).

A probiotikumok olyan élő mikroorganizmusok, amelyek – megfelelő mennyiségben fogyasztva – jótékony hatással vannak a szervezet egészségi állapotára és közérzetére. A probiotikumok legismertebb bélrendszerben fellelhető hasznos baktériumai a *Bifidobacterium* és a *Lactobacillus* nemzetségből származnak, de számos ismertebb nemzetség *Saccharomyces*, *Lactococcus*, *Streptococcus* törzsei is megtalálhatóak. Ahhoz, hogy egy probiotikum jótékony hatást fejtsen ki az emberi egészségre, számos kritériumnak kell megfelelnie: jó technológiai tulajdonságokkal kell rendelkeznie ahhoz, hogy előállítható legyen és élelmiszerekbe beépíthető legyen anélkül, hogy elveszítené életképességét és funkcionalitását, vagy nem kívánatos ízelet,

vagy textúrákat hozna létre. Túl kell élnie a felső gyomor- és bélrendszerbe való áthaladást. Továbbá élve kell megérkeznie a hatás helyére, és képesnek kell lennie a bélben való működésre (Saarela és mtsai., 2000). Gátolják a patogén baktériumok elterjedését a bélrendszerben, fokozzák a K és B vitamintermelést (Liba és mtsai., 2016). Továbbá számos jótékony fiziológiai hatással rendelkeznek: enyhítik a laktóz intoleranciát, segítik a szervezet ellenállóképességét a fertőzésekkel szemben, az immunrendszer funkcióinak serkentését, a koleszterinszintet meghatározott értéken tartják, a rákos megbetegedéseket indukáló enzimek aktivitását csökkentik (Kun, 2008). Ellenállnak a gyomorsav, az epe, valamint a nyál, a hasnyálmirigy és a bélnedvek emésztő enzimeinek. Vizsgálatokkal kimutatták, hogy védelmet nyújtanak az antibiotikumok okozta hasmenés megelőzésében és kezelésében, a kóros bélbetegségek-, gyulladások ellen is. Csökkentik bizonyos toxinok felszívódását és az oxidatív stresszet. Számottevő jótékony hatásuk mellett, kimondottan jól tolerálhatók, ezért nem okoznak mellékhatásokat puffadást, hasmenést (Demeter, 2005).

Az erjesztett termékek előállításában már sok száz éve használják a *Streptococcus thermophilus*-t, a *Lactococcus* fajokat és néhány *Lactobacillus* fajt. A *Bifidobacterium*-ok, *Lactobacillus*-ok és *Enterococcus*-ok probiotikus törzseit számos tejtermékben alkalmazzák. A fermentált tejtermékek, lehetnek vitaminokkal dúsítottak (B9-vitamin), pro- és prebiotikusak, illetve laktózmentesek (Playne és mtsai., 2003). A hazai piacon a legelterjedtebb probiotikus élelmiszerek: Activia joghurt, Actimel joghurt, Kaukázusi kefir (Vass, 2008). Nagyon fontos, hogy ne csak tej alapú probiotikus termékek jelenjenek meg a piacon, mivel mára a világ lakosságának mintegy 75%-a laktózérzékeny, így a népesség jelentős rész nem tudja ezeket a termékeket fogyasztani. A tejtermékek bevitelével kapcsolatos fő hátrányok a laktóztolerancia, a koleszterintartalom és az allergén tejfehérjék.

A laktóz emésztésében szerepet játszó vékonybélben található V-galaktózidáz enzim hiánya okozza a laktóz intoleranciának nevezett anyagcsere zavarkhoz vezető betegséget. Emiatt a tejcukor hidrolízise elmarad, így bontatlan formában kerül a bél alsóbb szakaszába (Granato és mtsai., 2010; Szalayné, 2009).

A probiotikumok szervezetbe történő beviteléhez a baktériumtörzseket és tulajdonságaikat tanulmányozni és ismerni kell. A faj szerinti megkülönböztetés mutatja meg, hogy az adott baktérium probiotikus vagy sem. Nemzetközileg szabályozzák, hogy mely baktériumok minősíthetők probiotikumoknak, s csak azokat tekintik probiotikus baktériumnak, amelyek tulajdonságai megfelelnek az elvárásoknak.

Probiotikumoknak tekinthető baktériumoknak a következő tulajdonságokkal kell rendelkezniük:

- ◁ Ellenálljanak a testfolyadékokkal szemben, mint a gyomorsav, epesav, valamint az emésztőenzimekkel szemben fokozott tűrőképességet mutassanak.
- ◁ Megakadályozzák a patogén anyagok megtapadását a bélfalon, és antibakteriális anyagokat termeljenek a patogének ellen.
- ◁ Alapvető elvárások közé tartozik, hogy ne termeljenek karcinogenezis elindításáért felelős enzimeket, kössék meg a karcinogén anyagokat, védjenek a fertőzésekkel szemben, ne termeljenek toxikus és hemolitikus anyagokat és ne tartalmazzanak átadható antibiotikum rezisztencia géneket.
- ◁ Tej / gyümölcslevek / és por alapú termékekben minél nagyobb számban és minél hosszabb ideig legyenek életképesek.
- ◁ Metabolikus aktivitásuk jótékony hatásait állati- és humán vizsgálatokkal kell igazolni, úgy, hogy nyomon követhető legyen (Szakály, 2004).

Néhány fontosabb probiotikumként használt mikroorganizmus látható az **1. táblázatban**.

1.táblázat: Probiotikumként alkalmazott mikroorganizmusok (Holzapfel és mtsai., 1998)

Probiotikumként használt mikroorganizmusok	
Nemzetségek	Fajok
<i>Lactobacillus (L).</i>	<i>L.plantarum, L.paracasei, L.acidophilus, L.casei, L.rhamnosus, L.crispatus</i>
<i>Streptococcus (S).</i>	<i>S.sanguis, S.oralis, S.thermophilus, S.salivarius</i>
<i>Pediococcus (P).</i>	<i>P.acidilactici, P.pentosaceus</i>
<i>Enterococcus (E).</i>	<i>E.faecium</i>
<i>Bifidobacterium (B).</i>	<i>B.longum, B.catenulatum, B.breve, B.animalis, B.bifidum</i>

A probiotikumként használt fajok rendszerint anaerob vagy fakultatív anaerob Gram-pozitív baktériumok, főként a tejsavbaktériumok nemzetségéből kerülnek ki, mint ahogyan az **1. táblázatban** megfigyelhető *Streptococcus, Enterococcus, Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus*, a nem tejsavbaktériumok csoportjába tartozó *Bacillus* genus,

Bifidobacterium, *Saccharomyces* vagy az *Escherichia coli* egyes törzsei jelenhetnek meg probiotikumként (Mombelli-Gismondo, 2000).

A *Bifidobacterium* fajok Gram-pozitív, nem spóráképző, nem mozgékony, kataláz negatív, szabálytalan alakú (görbült, ívelt, vagy Y alakú pálca) anaerob baktériumok. Napjainkban megközelítőleg 30 fajt számlál a nemzetség, amelyek közül 10 humán eredetű. Cukor hasznosítás során ecetsavat és tejsavat termelnek szén-dioxid felszabadulás nélkül. Az összes humán eredetű faj képes szénforrásként hasznosítani a galaktózt, a tejcukrot és a fruktózt is a glükóz mellett (Gomes & Malcata, 1999).

A *Lactobacillus* fajok Gram-pozitív, nem spóráképző, nem ostoros, nem mozgékony pálcák, vagy gömbök. Levegőtűrőek, vagy anaerobok és szigorúan fermentatívak. A glükóz homofermentatív úton történő hasznosítása során csak tejsavat képeznek, vagy heterofermentatív úton megegyező mennyiségben CO₂, tejsav, etil-alkohol és ecetsav keletkezik (Gomes & Malcata, 1999).

A probiotikus tejsavbaktériumok tulajdonképpen abban különböznek a közönséges tejsavbaktériumoktól, hogy a probiotikus tejsavbaktérium képes ellenállni a gyomorsav, az epesavak és az emésztőenzimek káros körülményeinek a vékonybélben, és életképességüket megtartva jutnak el a vastagbélbe, ott elszaporodhatnak és megtelepedhetnek a bélfalon, s mindezek eredményeként jótékony hatást fejtenek ki a szervezetre (Csapó és Albert, 2016).

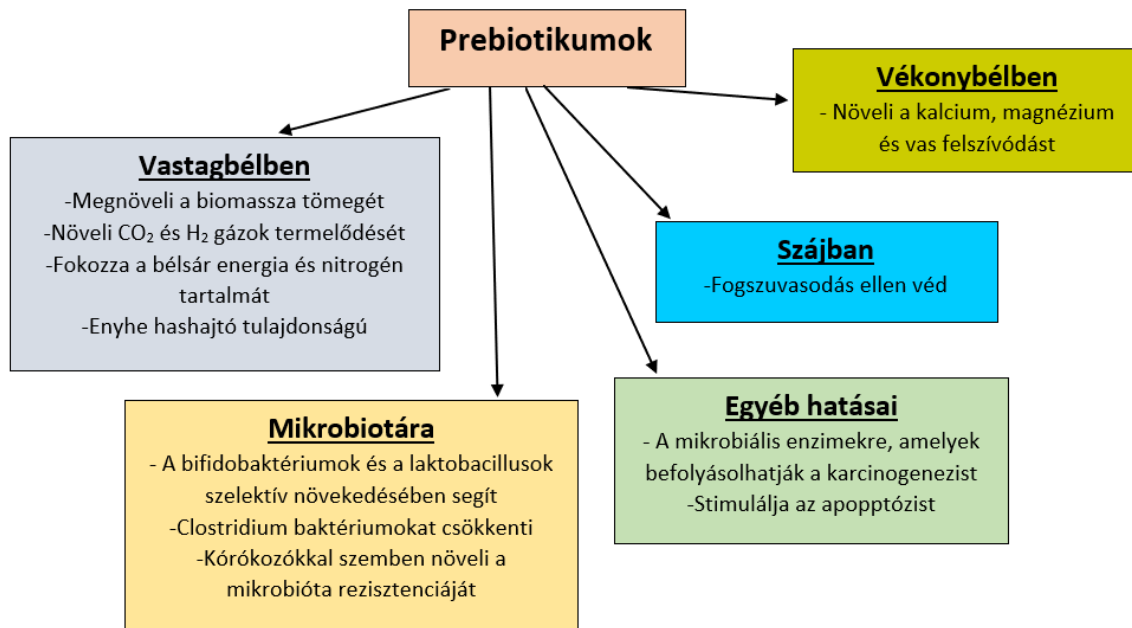
3.3. Prebiotikumok

A prebiotikumokat Gibson és Roberfroid (1995) a következőképpen fogalmazta meg: a prebiotikumok olyan nem emészthető élelmiszer-összetevők, amelyek jótékony hatással vannak a szervezetre, emésztetlenül jutnak el a vastagbélbe, és így növekedési szubsztrátumokká válhatnak az ott rezidens hasznos bélbaktériumoknak, elősegítve ezzel azok szaporodását.

A prebiotikumok döntő többségében olyan oligoszacharidok, melyek 2-9 egyszerű cukormolekulából épülnek fel. Szerkezetileg fehérje, lipid és peptid is lehet prebiotikum, de az iparban leginkább a nem emészthető szénhidrátokat hasznosítják (Polgár, 2003). Jellemzőjük, hogy a gyomorban és a vékonybélben nem emésztdnek meg, így érintetlenül jutnak el a vastagbélbe, ahol a bélmikrobióta jótékony tagjai számára szubsztrátként szolgálnak. Az oligoszacharidok jelenlétében a béltartalom

Bifidobacterium tartalma nő, a patogén baktériumok száma pedig csökken. A legtöbbet tanulmányozott oligoszacharidok a frukto-oligoszacharidok, a galakto-oligoszacharidok és a laktulóz. A prebiotikus hatású oligoszacharidok természetes módon megtalálhatóak a cikóriában, babban és a borsóban, de előfordulnak a vöröshagymában, a fokhagymában és a póréhagymában, az articsókában, zabpehelyben, búzában, banánban, tejben és az érett sajtokban is (Szakály, 2004). Ezekből a természetes anyagokból ipari úton tisztított formában előállíthatók a prebiotikumok.

A mikrobiota moduláció másik lehetősége a szinbiotikumok alkalmazása, amelyben a probiotikumokat és a prebiotikumokat együtt hasznosítják a funkcionális élelmiszerekben. A szinbiotikumok olyan készítmények, melyek alkalmazása során a két komponens előnyös tulajdonságai összeadódnak. Ez a kombináció javítja a probiotikus törzsek túlélését, mivel fermentációjukhoz specifikus szubsztrátok állnak rendelkezésre, és az élő mikroorganizmusok és a prebiotikumok által kínált előnyöket eredményezi a szervezet számára (Vitali mtsai., 2010). A szinergizmus révén a pro- és prebiotikumok kombinációja egymás hatásait felerősítve még értékeőbb táplálékot jelentenek a szervezet számára. Egyre több élelmiszer és táplálék-kiegészítő egyszerre tartalmaz pro- és prebiotikumot, ilyenek például az olyan probiotikus tejtermékek, amelyek a tejből készülve már eleve tartalmazzak prebiotikumot, például galakto-oligoszacharidokat, illetve esetenként inulinnal is dúsítottak. Jótékony hatásukat a szervezet különböző részein fejtik ki, amit az **1. ábrán** mutatok be:



1. ábra: Prebiotikumok jótékony hatásai (Cummins & Macfarlane, 2002 nyomán)

Az **1. ábrán** látható, hogy a prebiotikumok a szervezet bármely részén képesek kifejteni jótékony hatásukat. A vastagbélben történő fermentáció révén a prebiotikus szénhidrátokból a prebiotikumok rövid szénláncú zsírsavakat termelnek, így számos baktériumfaj szaporodását serkentik. Az inulin és az oligofruktóz a leggyakrabban használt prebiotikumok, melyek enyhe hashajtó hatásúak. Tehát a székletkibocsátás növekedése valószínűleg a biómassza növekedésének köszönhető. A szárazanyag-kiválasztás növekedése mellett fokozódik a nitrogén tartalom is. Gátolják a patogén mikroorganizmusokat, elősegítve a szervezet védelmét. Karcinogenezis gátlásában is nagy szerepük van, mivel csökkentik a vastagbélrák és egyéb daganatos megbetegedések kockázatait (Cummins & Macfarlane, 2002).

3.4. A szilva, mint antioxidáns

Táplálkozásunk tápanyagban gazdag, értékes és kellemes csoportját képviselik a gyümölcsök. Energiatartalmuk általában alacsony (120–250 kJ/100 g), kivétel a szőlőfélék csoportja, a trópusi gyümölcsök és a héjasok. Elhanyagolható mennyiségben, táplálkozás-élettani szempontból nem jelentős mértékben tartalmaznak fehérjéket és zsírokat (kivétel a héjasok pl. dió, mogyoró). Jelentős mennyiségű szerves savat tartalmaznak, ennek köszönhetően kellemes savanykás íz és üdítő hatás érezhető elfogyasztásukkor. Szilva esetében igen kis mennyiségű savtartalomról beszélhetünk, nem tartozik a savas gyümölcsök közé. Néhány fajtánál előfordulhat jelentéktelen mennyiségben oxálsav és borostyánkősav. Borkősavat nem tartalmaznak (Barta, 2007). A szilva tápanyagtartalmi jellemzőit a **2. táblázatban** foglaltam össze:

2. táblázat: Szilva tápanyagtartalma (Bíró és mtsai., 1995)

Gyümölcs (100g)	Energia (KJ/ kcal)	Fehérje (g)	Zsír (g)	Szénhidrát (g)	Kálium (g)	Foszfor (mg)	Kalcium (mg)	Nátrium (mg)
szilva	244/58	0,7	0,5	13,1	221	30	16	4
aszalt szilva	1126/268	2,3	2,0	61,8	824	73	40	8

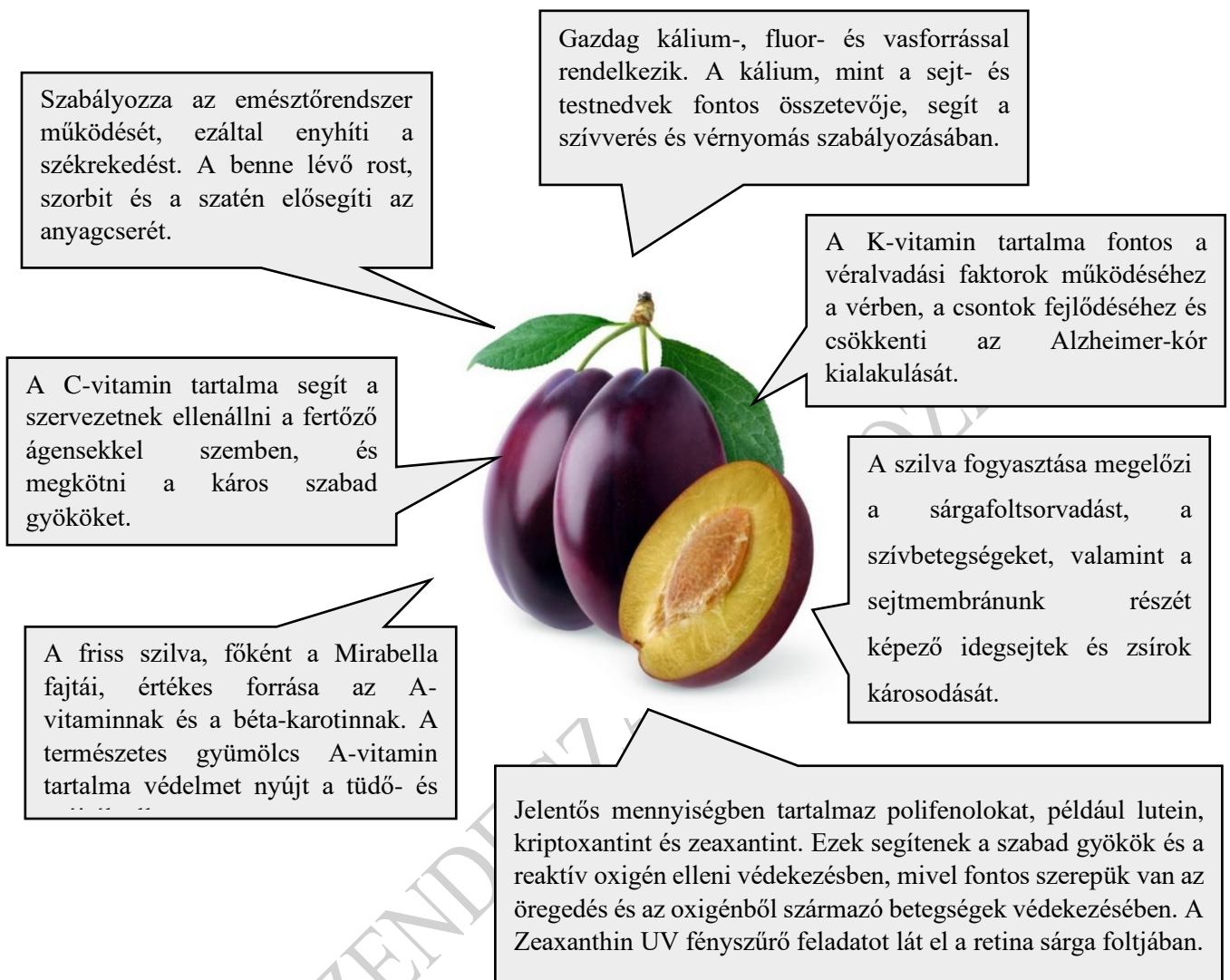
Ahogy a **2. táblázatban** szereplő adatok is mutatják a szilvának magas az ásványianyag-tartalma, melynek három csoportját lehet megkülönböztetni a humán jelentősége kapcsán: makro-, mikro és ultramikroelemeket. A szilva ásványianyag-tartalma a gyümölcs érésével növekszik, ezek az anyagok határozzák meg a szilva tápértékét és ízét. Makroelemek azok, amelyek létfontosságúak, és 50 mg-nál nagyobb mennyiség bevitele szükséges naponta. Ilyen a foszfor, melynek a csontok és fogak szilárdságában, a kálium, melynek a sav-bázis és ozmotikus nyomás fenntartásában van szerepe. Fontos megemlíteni a magnéziumot és kalciumot is, mivel az előbbi szerepet játszik az emberi szervezet izom-, idegrendszer megfelelő működésében, a kalciumnak pedig a szívizom, a haránt izmok működésében és enzimek által katalizált folyamatokban van jelentősége. Szintén nagyon fontos szerepük van a mikroelemeknek is, de ezekből kevesebb mint 50 mg mennyiségre van szüksége a szervezetnek a napi bevitel során (Kajtár és Petó, 2020). A szilva szénhidrát tartalmának jelentős részét a glükóz, fruktóz, szacharóz és a szorbit teszi ki. A szénhidrátok legfontosabb feladata az

energiaszolgáltatás, mert ez a legkönnyebben mozgósítható energiaforrásunk. A gyümölcsök, zöldségek, diófélék és magvak, valamint a bogyós gyümölcsök a leggazdagabb antioxidáns tartalmú élelmiszerek. Az antioxidáns vegyületeket javarészt táplálkozás során juttatjuk a szervezetünkbe, mely az emberi szervezet számára alapvető szükséglet.

Az antioxidánsok lehetnek membrán antioxidánsok, mint az E-vitamin, β -karotin vagy az A-vitamin, melyeknek affinitása van a sejtmembránhoz, és a lipoproteinekhez, s lipofil antioxidánsoknak is nevezik őket. Lehetnek keringő antioxidánsok vagy hidrofíli antioxidánsok, mint a C- vitamin, aminosavak, polifenolok, melyek nem kötődnek könnyen fehérjékhez, hanem szabadon áramolnak a testnedvekben. A citoszol antioxidánsokat a sejtek termelik, mint a Q10 koenzim, liponsav, valamint a rendszer antioxidánsok közé sorolhatók egyes nyomelemek, szelén, cink, aminosavak, szelenocisztein, melyek a védelmi rendszer fontos alkotói (Cornetti, 2009).

A polifenolok az antioxidánsok csoportjába tartozó igen fontos vegyületek, mivel képesek megvédeni az emberi szervezetet a reaktív oxigén gyököktől. A szabad gyökök szerepet játszanak számos degeneratív folyamatban, beleértve az öregedést, a rákot, a szív- és érrendszeri betegségeket, az érrelmeszesedést, az idegrendszeri rendellenességeket, a bőrirritációkat és gyulladásokat (Asmus & Bonifacic, 2000). A polifenol tartalom és az antioxidáns hatás között Lugasi (2004) szoros összefüggést állapított meg. Kísérlete során húszféle gyümölcsle polifenol-tartalmát és antioxidáns tulajdonságát tanulmányozta, amiből kiderült, hogy gyümölcslevek antioxidáns hatása jelentősebb a zöldségekből nyert levekhez képest. A vizsgált gyümölcslevek közül a magas antocián-tartalmú növények, mint a bodza, a kékszőlő, a feketerberizke és a szilva antioxidáns hatása a legnagyobb (Lugasi, 2004). Az antioxidáns kapacitás gyümölcsfajonként eltérő, de ez sok esetben igaz a fajták között megmutatózó eltérésekre is, ez adódhat az egyes fajták közötti különbségekből, illetve az eltérő környezeti körülményekből is (Scalzo és mtsai., 2005).

A szilva szervezetre gyakorolt egyézségvédő hatásait a **2. ábrán** foglaltam össze.



2. ábra: Szilva egészségügyi hatásai (Birwal és mtsai., 2017)

Ezek mellett a gyümölcsökben nagymértékben megtalálhatóak az antocianinok, melyek különböző fémionokkal komplexet alkotva hozzák létre a gyümölcsök színét. Különböző pH tartományokban eltérő színűek, így savas közegben piros, semleges közegben színtelen, majd lúgos közegben kék szín jellemzi őket. A szín fontos érzékszervi tulajdonság a termék minőségének meghatározásában. Emellett a bőséges antocianint tartalmazó élelmiszerek egyre elterjedtebbek vonzó színeik és az emberi egészségre gyakorolt feltételezett előnyei miatt (Antus és mtsai., 2010).

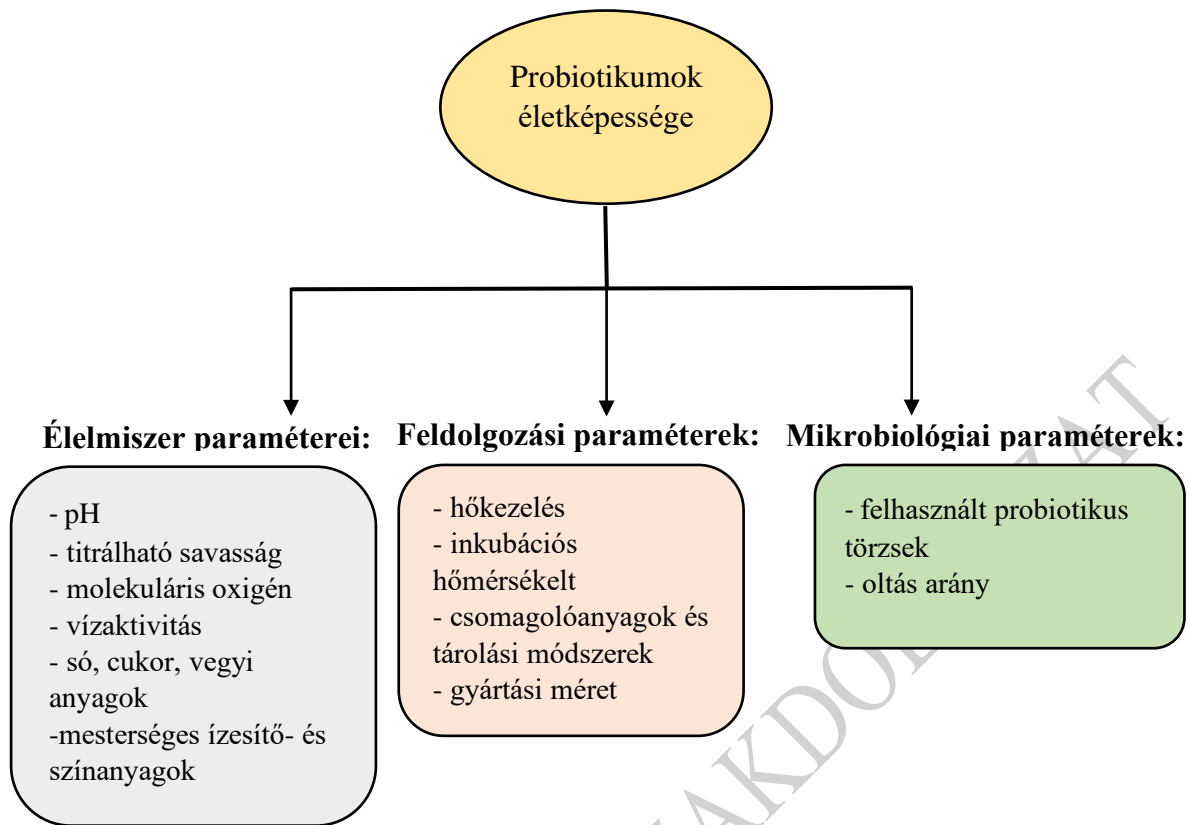
3.5. Fermentált gyümölcslevek

Kutatások bizonyítják (Luckow és mtsai., 2006), hogy a gyümölcsök, zöldségek, gabonafélék és szójabab alapú italokat alkalmasak probiotikus törzseket tartalmazó új termékeként. Különösen a gyümölcslevekről számoltak be, mint új és megfelelő tápközegek a probiotikumok számára. Napjainkban a fermentált gyümölcslevek jelentős figyelmet kaptak az egészségtudatos fogyasztóktól is, mivel a gyümölcsök teljesen mentesek a tej allergénjétől vagy tejcukortól, -ebből adódóan ideális alternatívának bizonyulhatnak a probiotikumok eljuttatására a lakosság azon nagy része számára, akik nem tudnak vagy nem akarnak tejtermékeket fogyasztani. A tejtermékekkel szemben ezek a termékek nem okoznak laktóz intoleranciát, tehéntej fehérjére allergiát vagy magas koleszterinszint okozta betegségeket (Nagpal és mtsai., 2012).

Az elsődleges szempont a gyümölcslevek és más funkcionális élelmiszerek gyártása során, hogy a probiotikus törzsek megtartsák életképességüket a feldolgozási műveletek és a tárolás során, illetve túléljék a bélrendszeren való áthaladást. De ismert számos olyan tényező, melyek nagyban korlátozhatják a probiotikumok túlélését a gyümölcslevekben. Az azonosított tényezőket a **3. ábrán** foglaltam össze.

A probiotikumok enzim rendszerük segítségével bizonyos módon metabolizálják a gyümölcsökben a különféle vegyületeket, mely során szerves savakat, rövid szénláncú zsírsavakat és fenolos vegyületeket állítanak elő, miközben csökkentik a cukor-, ill. felszívódást gátló tényezőket, például alkaloidok, tanninok és oxalátok mennyiségét. Ezek az átalakítások nagymértékben megváltoztatják a gyümölcslé funkcionális összetevőit, és javítják a biológiai hozzáférhetőségüket, mely különféle egészségügyi előnyökkel jár az emberi szervezet számára. Mindeközben a probiotikus fermentáció befolyásolhatja a gyümölcslé aromaprofilját és érzékszervi minőségét azáltal, hogy illékony vegyületek, például észterek, alkoholok, aldehidek, ketonok, terpének keletkeznek a metabolizmus során.

Mindent összevetve a probiotikus fermentáció a cukorcökkentés, a savtermelés és a másodlagos metabolitok képződésének folyamata, ami pozitívan befolyásolja a gyümölcs- és zöldséglevek ízét, táplálkozási és funkcionális jellemzőit, valamint eltarthatóságát (Tian és mtsai., 2023).



3. ábra: Probiotikumok életképességét befolyásoló fontos tényezők az élelmiszerekben (Tripathi & Giri, 2014 nyomán)

FÜLÖP SZENDE SZAKDOKUMENTUM

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4.1. Felhasznált mikroorganizmusok

A kísérleteimben alkalmazott mikroorganizmus törzseket a **3. táblázat** tartalmazza.

3. táblázat: Vizsgálataimhoz felhasznált *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsek

Sorszám	Törzs
1	<i>Lactobacillus plantarum</i> 299v
2	<i>Lactobacillus casei</i> 01
3	<i>Lactobacillus salivarius</i> HA 118
4	<i>Bifidobacterium lactis</i> Bb12
5	<i>Bifidobacterium bifidum</i> Rosell-71
6	<i>Bifidobacterium longum</i> DSM 16603

4.2. Felhasznált kórokozó mikroorganizmusok

A kísérletemben alkalmazott kórokozó mikroorganizmusok apatogén törzseit a **4. táblázat** tartalmazza.

4. táblázat: Apatogén törzsek

Törzs	
1	<i>Escherichia coli</i> 0157: H7
2	<i>Escherichia coli</i> 8739
3	<i>Enterobacter cloacae</i>
4	<i>Enterococcus faecalis</i>
5	<i>Listeria monocytogenes</i>

4.3. Tápközegek

4.3.1. Laboratóriumi tápközegek

TPY (Trypticase-Phytone-Yeast extract) tápleves

A TPY táplevest *Bifidobacterium*-ok felszaporítására alkalmaztam, a megadott tápleves összetételét (5. táblázat) hitelesített táramérleg segítségével mértem ki, mágneses keverővel homogenizáltam, majd Erlenmeyer lombikba töltöttem és 121°C -on, 15 percig autoklávban sterilizáltam.

5. táblázat: TPY tápleves összetevői

Összetevő	Mennyiség
Tripton	10 g
Phyton pepton	5 g
Glükóz	5 g
Élesztőkivonat	2,5 g
Tween 80	1 g
Cisztein- HCl	0,5 g
K ₂ HPO ₄	2 g
MgCl ₂ *6H ₂ O	0,5 g
ZnSO ₄ *7H ₂ O	0,25 g
CaCl ₂	0,15 g
FeCl ₃ *6H ₂ O	0,03 g
Desztillált víz	1000 ml

TPY agar

Az összetétele megegyezik a fent említett TPY táplevessel, melyet 15 g agar-aggarral egészítettem ki.

TSB (Trypton Soy Broth)

A TSB táplevest a kórokozók fenntartására és az antimikrobás anyaga termelő képesség vizsgálatára alkalmaztam agardiffúziós módszernél (6. táblázat).

6. táblázat: TSB tápleves összetevői

Összetevők	Mennyiség
Tripton	15 g
Szója pepton	5 g
NaCl	5 g
Desztillált víz	1000 ml

MRS (de Man Rogosa Sharpe) tápleves

Az MRS táplevest *Lactobacillus* törzseknél alkalmaztam, a megadott tápleves összetételét (**7. táblázat**) hitelesített táramérleg segítségével mértem ki, mágneses keverővel homogenizáltam, majd Erlenmeyer lombikba töltöttem és 121°C -on, 15 percig autoklávban sterilizáltam.

7.táblázat: MRS tápleves összetevői

Összetevő	Mennyiség
Proteóz-pepton	10 g
Húskivonat	8 g
Élesztőkivonat	4 g
Dextróz	20 g
Na-acetát	5 g
Triammónium-citrát	2 g
Mn-szulfát	0,05 g
Mg-szulfát	0,2 g
K ₂ HPO ₄	2 g
Tween 80	1 g
Desztillált víz	1000 ml

MRS tápagar

Az összetétele megegyezik a fent említett MRS táplevessel, melyet 15 g agar-aggarral egészítettem ki.

Fiziológiás sóoldat

A fiziológiás sóoldatot a hígítási sorhoz készítettem, amely elkészítéséhez 1000 ml desztillált vizet használtam, és ebben feloldottam 8,5 g NaCl-ot. A kapott oldatot 4,5 ml-enként kémcsövekbe szétosztottam pipettával, majd autoklávban 121°C -on, 15 percig sterilizáltam.

4.3.2. Szilva alapú tápközeg

A kísérletemhez a Biotta márkájú 35%-os szilvalevet választottam (**4. ábra**), melyet külföldről szereztem be a munkámhoz. A gyümölelslére vonatkozó tápértékeket a **8. táblázatban** szemléltettem.



4. ábra: Biotta szilvalé (internet1)

8. táblázat: Biotta szilvalére vonatkozó tápérték adatok

Tápanyagok	tápérték 100 ml-ben
Energia	276 kJ (65 kcal)
Zsír	0,1 g
-amelyből telített zsírsavak	0 g
Szénhidrát	13,5 g
-ebből cukrok	12,2 g
Rost	1,1 g
Fehérje	0,3 g
Só	0,01 g

*természetesen előforduló cukrokat tartalmazhat

Hazai gyümölcsből préselt szilvalé

A megmosott, kimagozott gyümölcsből Hurom Slow Juicer gép segítségével levet nyertem, melyet 80°C-on 10 percig pasztöröztem.

4.4. Alkalmazott módszerek

4.4.1. Törzsfenntartás

A vizsgált mikroorganizmusokat folyadéktenyészetben tartottam fent, és szaporodóképességének hatékonysága érdekében többször átoltottam. A *Lactobacillus*-okat MRS táplevesben míg a *Bifidobacterium* törzseket TPY táplevesben szaporítottam. A *Bifidobacterium*-ok számára az anaerob környezetet anaerob jar segítségével biztosítottam a munkafolyamat során. A tenyésztést és a fermentációt 37°C-on végeztem.

4.4.2. Szilvalé fermentáció

Beállítottam a szilvalevek pH-értékét 4 n NaOH segítségével pH 6 körüli értékre. A gyümölcsleveket steril lombikokba adagoltam, majd 1% 24 órás inokulum tenyészettel indítottam a fermentációkat. A 24-48 órás fermentációk során időközönként mintát vettem és meghatároztam a pH és sejtszám értékeket, valamint a titrálható sav és polifenolos komponensek mennyiségét.

4.4.3. pH mérés

Mettler Toledo SevenMulti™ típusú pH mérőt alkalmaztam a gyümölcslevek kémhatásának vizsgálatára. Minden mérés előtt kalibráltam a készüléket a megfelelő kalibráló oldatok segítségével. A kísérlet előtt feljegyeztem a kezdeti pH értéket, majd a megfelelő idő elteltével mintát vettem és ismételten megmértem a kémhatást.

4.4.4. Élősejtszám meghatározás

A gyümölcslé és a tenyészlé mintákból a vizsgálat során tizedelő hígítási sort készítettem, mégpedig úgy, hogy a steril 4,5 ml fiziológias sóoldathoz pipettáztam 0,5 ml-es mennyiségeket a törzsoldatból. A megfelelő hígítási tag eléréséig folytattam a műveletet. Az adott hígítási tagokból 50 µl mennyiségeket pipettáztam a Petri-csészékbe, majd ezeket felöntöttem a megfelelő táptalajjal és homogenizáltam. A vizsgálat során a mintákból párhuzamos méréseket végeztem a pontosabb eredmény érdekében. A Petri csészéket a baktériumoknak megfelelő körülmények között 48-72 óráig 37°C-on inkubáltam.

4.4.5. Antimikrobás anyagok kimutatása

Agardiffúziós módszerrel vizsgáltam a *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsekkel fermentált gyümölcslevek antimikrobás hatását, amihez műanyag Petri-csészéket alkalmaztam. A kísérlet során 5 féle kórokozóból pipettáztam 200 µl egy Petri csészébe, majd felöntöttem a tenyészetet lágy TSB agarral, olyan vastagságban, hogy megfelelően tudjak lyukat fúrni az agarba. Ezt követően mindegyiket óvatosan homogenizáltam, annak érdekében, hogy egyenletesen elkeveredjen benne a törzs. Miután megdermedt az agar mindegyik csészébe 8 mm átmérőjű lyukakat fúrtam. A vizsgálandó mintából 150 µl-t pipettáztam a lyukakba, majd 1 órára hűtőszekrénybe tettem, végezetül 24 óráig 37°C-on inkubáltam a Petri csészéket. A feltisztulási zónák mérete alapján értékeltam az eredményeket.

4.4.6. Titrálható savtartalom

A gyümölcslelő titrálható savtartalma a hidrogénion tartalomra utal, ez az érték a gyümölcslelő savasságáért felelős összes anyagra vonatkozik, mint a szabad hidrogénionok, szerves savak, sók és kationok. A savtartalom méréshez desztillált vízzel tiszteresére hígítottam a mintákat, majd 0,1 M -es nátrium-hidroxid oldattal titráltam. A szilvalé sötét színe miatt az átcsapási pontot pH méréssel határoztam meg. A titrálás 8,2 pH értékig végeztem, majd leolvastram a mérőoldat fogyását. A fogyott mérőoldat térfogatból, és a nátrium-hidroxid faktorából kiszámítottam a titrálható savtartalom mennyiségét.

4.4.7. Antioxidáns- aktivitás mérése TPC módszerrel

Az összes polifenol- tartalom meghatározását Folin-Cioalteau reagens segítségével végeztem el galluszsavra vonatkoztatva. A Folin-Cioalteau módszer a reagens kémiai redukcióján alapul. A fénoxid redukció termékei kék színűek, spektrometriásan meghatározhatók, $\lambda = 765$ nm-es hullámhosszon.

Vegyszerek:

◁ Folin Ciocalteau oldat

Folin-Ciocalteau és desztillált víz 1:9 arányú keveréke

◁ Metil-alkohol oldat

Metanol és desztillált víz 4:1 arányú keveréke

◁ Nátrium- karbonát oldat

0,7 M (0,7 mol/dm³) nátrium-karbonát oldat: 74,193 g Na₂CO₃-at oldok be 1000 cm³ desztillált vízbe.

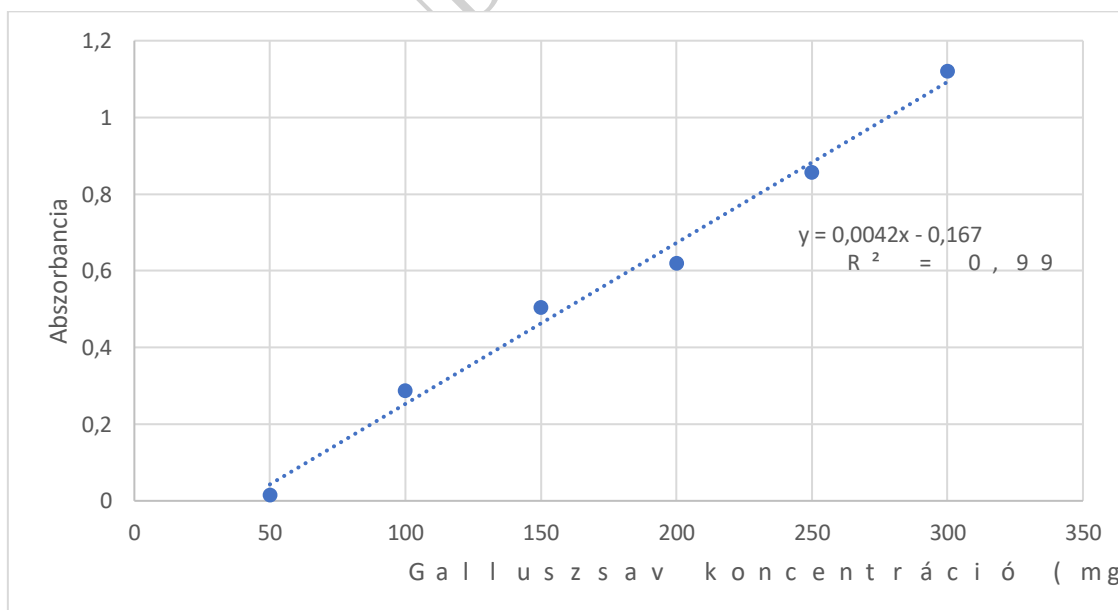
Kalibráció

A kalibrációs egyenest a galluszsav segítségével vettem fel, melyhez 0,3 g/100 ml-oldatot készítettem. A törzsoldatból desztillált vízzel hígítási sort készítettem, majd elvégeztem a mérést az egyes hígítási tagokból.

Mérés menete

- ◁ Elsőként automata pipettával kimértem 1250 µl Folin-Cioalteau oldatot egy tiszta kémcsőbe.
- ◁ Ezt követően 240 µl metil- alkoholt adtam hozzá.
- ◁ A hígított mintából 10 µl adtam a kémcsövek tartalmához.
- ◁ Pontosan 1 perc után 1000 µl 0,7M Na₂CO₃ oldatot adtam hozzá.
- ◁ Összeráztam a kémcsöveket, majd 5 percre 50°C-os vízfürdőbe tettem.
- ◁ Végezetül félmikro műanyag küvetákba töltöttem, és λ= 765 nm-es hullámhosszon lemértem az abszorbancia értékeket a felvett kalibrációs egyenesre.

A galluszsavra felvett kalibrációs egyenest az **5. ábrán** szemléltetem.



5. ábra: Galluszsavra felvett kalibrációs egyenes

5. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

5.1. Szilva alapú tápközeg fermentálhatóságának vizsgálata probiotikus *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsekkel

Szilvalé fermentációját vizsgáltam különböző *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsek alkalmazásával. Kezdetben a pH alakulását vizsgáltam, majd 24 órás fermentáció során időközönként mintát vettem és meghatároztam a sejtszám értékeket, valamint a titrálható sav és polifenolos komponensek mennyiségét.

A fermentált gyümölcslevek antimikrobás hatását is teszteltem kórokozó mikroorganizmusok ellen.

5.1.1. pH értékek alakulása

Az első kísérlet során 3-3 probiotikus *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzs szilvalében történő szaporodását követtem, mind hígítatlan, mind kétszeresre hígított Biotta gyümölcsle esetén. A kísérletek megkezdése előtt a szilvalevek kémhatását, a baktériumok igényeinek megfelelően beállítottam pH 6 körüli értékre. A pH változást megfigyeltem 24 óra és 48 óra elteltével is, melyet a **9. táblázatban** szemléltettem.

A szaporodás során keletkezett szerves savak pH csökkentő hatásából következtettem a szilvalé fermentálhatóságára a vizsgált probiotikus törzsek esetén. A táblázat nagyon jól mutatja, hogy a legtöbb törzs esetén a gyümölcsle pH értéke a kiindulási pH=6,44-ről jelentősen csökkent. Megállapítható, hogy 24 és 48 órás fermentációnál is a kétszeres hígítású szilvalében a *Lactobacillus* törzsek közül a *L.plantarum* 299v törzs mutatta a legjelentősebb pH csökkentést, míg a *Bifidobacterium* törzseknél a *B.bifidum* Rosell-71 törzsszel fermentált szilvalé pH-ja csökkent a legjobban. A 24 órás fermentáció során mind a hígítatlan, mind a kétszeresére hígított szilvalében a legminimálisabb pH csökkenést *Bifidobacterium longum* DSM 16603 eredményezte. 48 órát követően is a hígítatlan szilvalében a *B.longum* DSM 16603 törzs minimális csökkenést mutat, mindössze pH=6,11 -re csökkent a kémhatás pH=6,44-ről. A kétszeresére hígított szilvalében a *L. salivarius* HA-118 és a *B.longum* DSM 16603 törzsszel végzett 48 órás fermentációt követően a pH érték 4,21-ig csökkent, tehát elmondható, hogy a hígított szilvalében az eredetileg gátlást okozó komponensek koncentrációja is csökkent, mely lehetővé tette a *B. longum* DSM 16603 törzs lassú

szaporodását is a közegben. Ahogyan a **9. táblázat** is mutatja, a 48 órás fermentációban a *Lactobacillus* törzsek szerves sav termelése következtében mutatkozó pH csökkenés közel azonos volt, néhány században térnek el egymástól. Összevetve a 24 órás és a 48 órás fermentáció eredményeit, azt látjuk, hogy a legalacsonyabb aktivitás a *B.longum* DSM 16603 törzsnél mutatkozott, tehát az adott körülmények között nem volt képes szaporodni.

9. táblázat: pH alakulása *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsekkel fermentált hígítatlan és kétszeresre hígított szilvalében 48 óra után fermentáció során

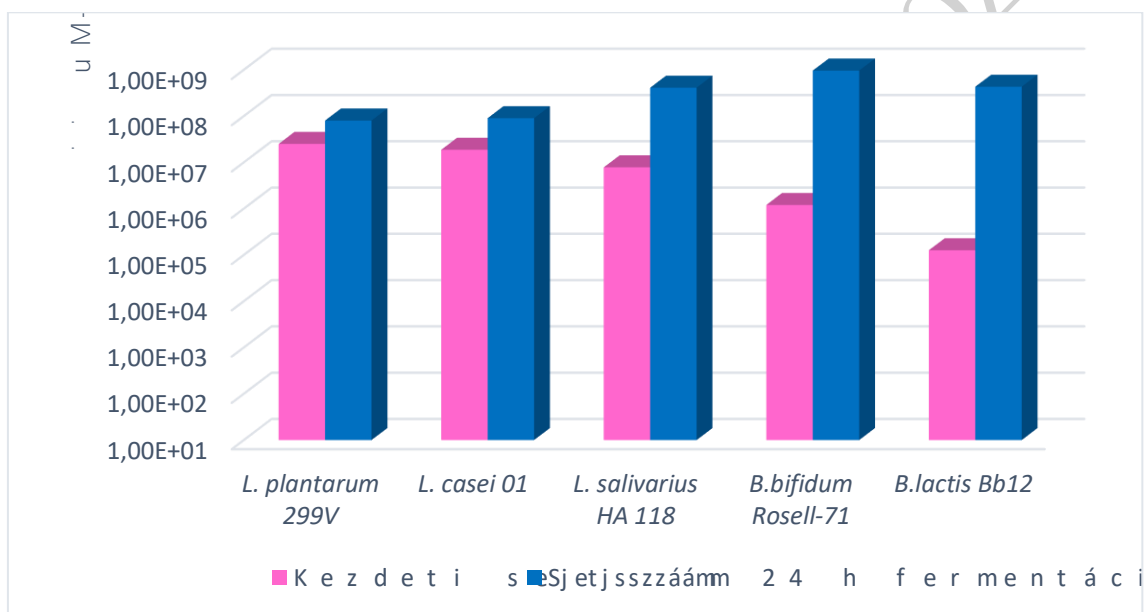
Törzsek	pH változás			
	24h		48h	
	kétszeres hígítás	hígítatlan	kétszeres hígítás	hígítatlan
<i>L.plantarum</i> 299v	4,51	5,53	4,09	4,40
<i>L.casei</i> 01	4,86	5,63	4,18	4,42
<i>L. salivarius</i> HA-118	4,98	5,72	4,21	4,48
<i>B.bifidum</i> Rosell-71	4,65	5,17	3,97	4,21
<i>B.lactis</i> Bb12	4,93	5,66	4,06	4,40
<i>B.longum</i> DSM 16603	6,16	6,18	4,21	6,11

5.1.2. Sejtszám alakulása

A pH változás mérése alapján a következő kísérletben meghatároztam az élő sejtszám alakulását is fermentáció során. Munkám során a kétszeresére hígított Biotta szilvalevet alkalmaztam 1%-os beoltással, mely körülmények között a pH már 24 óra alatt is pH 5 érték alatti volt. A kísérlet során kapott adatokat a következő ábrán (**6. ábra**) szemléltetem.

A **6. ábrán** látható, hogy a vizsgált mikroorganizmusok mindegyike jelentős sejtszám növekedést mutatott a 24 órás fermentáció során. Megfigyelhető, hogy a *Bifidobacterium* törzsek alacsonyabb kezdeti sejtszám értékről indultak, mint a többi törzs, de a 24. órás fermentáció végére a többi törzshöz hasonlóan nagymértékben

megnövekedett az élőcsíraszámuk. A *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71-nél volt tapasztalható a legnagyobb, $9,6 \cdot 10^8$ TKE/ml sejtszám, míg a *Lactobacillus* törzsek közül a *L. salivarius* HA-118 mutatta a legnagyobb sejtszámot, $4,1 \cdot 10^8$ TKE/ml-t a fermentáció végén. Közel azonos értéket határoztam meg mind kezdetben, mind a fermentáció után a *L. casei* 01 és a *L. plantarum* 299v törzseknél. A legkisebb mértékű növekedést a *L. casei* 01 esetén tapasztaltam a *Lactobacillus*-ok közül, míg a *Bifidobacterium* esetén a *B. lactis* Bb12 mutatta a legalacsonyabb sejtszámot. Összehasonlítva a törzseket a *Bifidobacterium*-ok eredményesebbnek bizonyultak, mivel alacsonyabb kezdeti sejtszámról indultak, de ugyanannyi idő alatt nagyobb sejtszámot értek el, mint a *Lactobacillus* törzsek.



6. ábra: A sejtszám alakulása 24 órás fermentáció alatt szilvalében 3 különböző *Lactobacillus* törzset és 2 különböző *Bifidobacterium* törzset felhasználva

5.2. Szilvalé vegyes kultúrák fermentációja

További kísérleteimben az előzőekben legjobbnak bizonyult *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsekkel készítettem egy vegyeskultúrák beoltást is a szilvalé fermentációjához, melyhez a *Lactobacillus salivarius* HA 118 és a *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71 törzsekre esett a választásom. A gyümölcslevet a *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* 1:1 arányú kombinációjával oltottam be és indítottam el a fermentációt. Vizsgálatom 48 órán keresztül tartott és 8 óránként mintát vettem, hogy megvizsgáljam

hogyan alakul a pH, illetve sejtszám mennyiség. A kapott eredményeket a **7. ábrán és a 10. táblázatban** szemléltettem.

A **10. táblázatban** látható, hogy a kiindulási kémhatást pH=6,04-re állítottam a kezdeti szilvalé esetében. A *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71 törzssel fermentált szilvalé esetében ez az érték egészen pH 4,31-ig lecsökkent a szilvalé kezdeti kémhatásához képest.

10. táblázat: pH alakulása 48 órás mono- és vegyes kultúras szilvalé fermentáció alatt

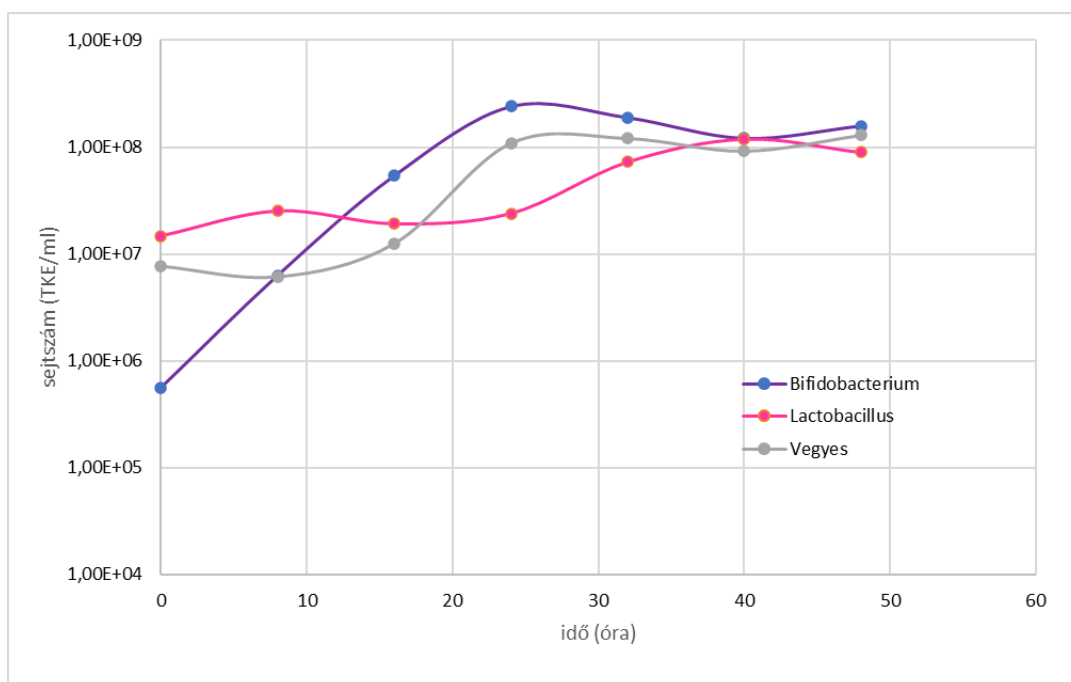
Fermentációs idő	<i>Bifidobacterium bifidum</i> Rosell-71	<i>Lactobacillus salivarius</i> HA 118	Vegyes kultúra
0 órás	6,04	6,04	6,04
8 órás	5,94	5,67	5,85
16 órás	5,97	5,95	5,48
24 órás	5,11	4,85	4,8
32 órás	4,73	4,74	4,57
40 órás	4,51	4,69	4,37
48 órás	4,31	4,44	4,31

Ugyanez elmondható a vegyes kultúra esetében is, viszont a vegyes kultúránál sokkal gyorsabban csökkent a kémhatás, mivel a 24 órás mintavételnél már pH=5 alatti az érték, míg *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71 törzs esetén csak 32 óra után esett az említett érték alá. A *Lactobacillus salivarius* HA-118 törzs esetében a pH= 4,44-ig csökkent 48. órát követően. Összeségében elmondható, hogy a vegyes kultúra esetén csökkent a leggyorsabban pH-érték, ami bizonyítja, hogy a törzsek támogatják egymást a szaporodásban.

Sejtszám alakulását tekintve a *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71 törzs mutatja a legintenzívebb szaporodást egészen a 24. óráig. Az exponenciális szakaszt követően, hozzávetőlegesen a 24. órát elérve már számottevő növekedés nem volt tapasztalható. A *Lactobacillus salivarius* HA-118 törzssel és a vegyes kultúrával megvalósított fermentációt tekintve közel azonos a növekedés a gyorsuló növekedési szakaszban.

A *Lactobacillus salivarius* HA-118 törzs görbét tekintve, a sejtszám növekedése alig éri el az egy nagyságrendet. A vegyes kultúra esetében is a *Bifidobacterium*-hoz

hasonlóan az exponenciális szakasz a 24 óráig tart, a sejtszám eléri a $1,09 \cdot 10^8$ TKE/ml értéket.



7. ábra: Sejtszám alakulása 48 órás mono- és vegyes kultúras szilvale fermentáció alatt

5.3. Probiotikus *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsek antimikrobás anyag termelése

Kísérletemben megvizsgáltam a monokultúras *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71, és *Lactobacillus salivarius* HA-118 törzsek, illetve ezek vegyes kultúrájával fermentált szilvalevek antimikrobás hatását. Az eddig alkalmazott Biotta szilvalé mellett, saját préselésű hazai szilvalevet is fermentáltam, s kontrollként a két különböző szilvale beállított pH értékű és kezeletlen mintáját alkalmaztam, annak ellenőrzésére, hogy a szilvale magában is gátolja-e a kórokozók szaporodását. Az említett mintákból 150 μ l-t mértem be az agarba fűrt lyukakba. 24. órás inkubációt követően meghatároztam a lyukak körüli feltisztulási zónák méretét, amelyet a **11.** és **12. táblázat** szemléltet.

A **11. táblázat** alapján megállapítható, hogy az öt vizsgált minta esetén az *E. cloacae* törzsszel szemben már a szilvale is gátló hatású volt, s ez a hatás érvényesült a fermentált minták esetén is, mely a *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71 esetén volt a

legnagyobb (**8. ábra**). A *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71 és standard szilvalé estén 2 mm vastag gátlási zónák rajzolódtak ki. Hasonló mértékű gátlást tapasztaltam az *E. coli* 8739 és az *E. faecalis* ellen (**9. ábra**). A pH állított szilvalének nem volt gátló hatása, egyik kórokozóval szemben sem volt látható feltisztulási zóna. Összességében a *B. bifidum* törzssel fermentált szilvalé antimikrobás hatása volt a legjelentősebb.

11. táblázat: Biotta szilvalé gátló hatás vizsgálata során kapott feltisztulási zónák mérete az öt kórokozó mikroorganizmussal szemben

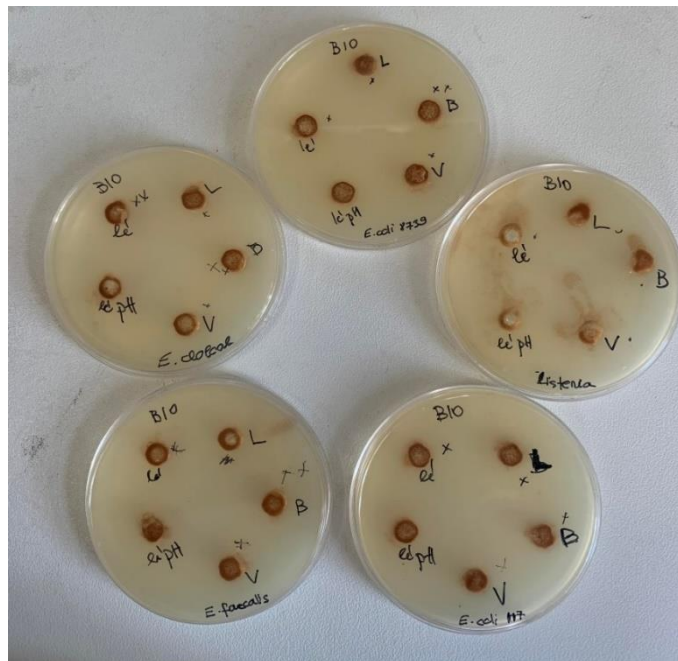
Törzs	Feltisztulási zónák mérete (mm)				
	<i>E.coli</i> 8739	<i>E coli</i> 0157:H7	<i>E.faecalis</i>	<i>L. mono-</i> <i>cytogenes</i>	<i>E.cloacae</i>
<i>Lactobacillus salivarius</i>	1	1	0	0	1
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	2	1	2	0	2
Vegyes kultúra	1	1	1	0	1
Szilvalé	1	1	1	1	2
Szilvalé pH állított	0	0	0	0	0

12. táblázat: Hazai frissen facsart szilvalé gátló hatás vizsgálata során kapott feltisztulási zónák mérete az öt kórokozó mikroorganizmussal szemben

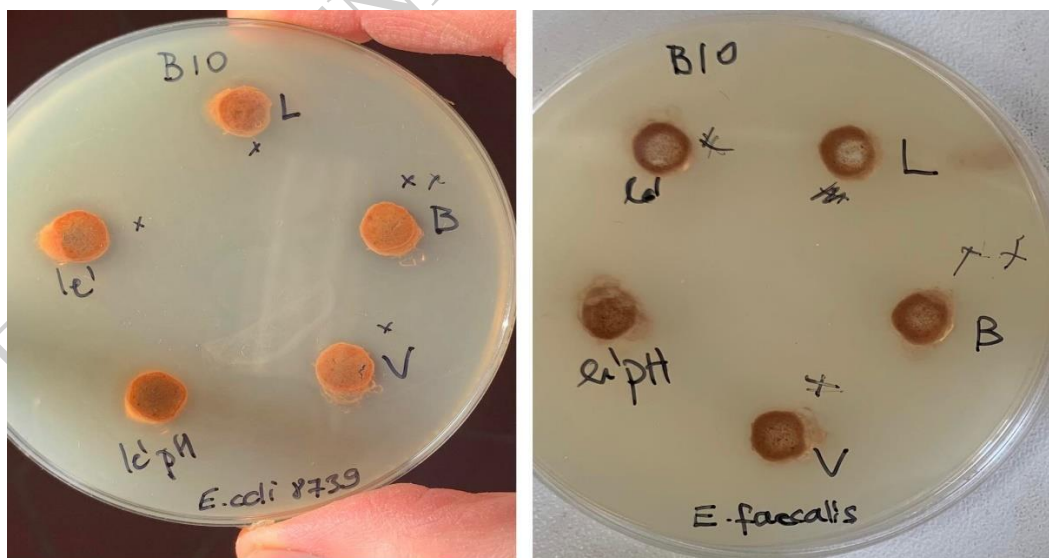
Törzs	Kórokozó feltisztulása (mm)				
	<i>E.coli</i> 8739	<i>E coli</i> 0157:H7	<i>E.faecalis</i>	<i>L. mono-</i> <i>cytogenes</i>	<i>E.cloacae</i>
<i>Lactobacillus salivarius</i>	0	0	0	0	0
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	0	0	0	0	0
Vegyes kultúra	0	0	1	0	0
Szilvalé	0	0	2	0	1
Szilvalé pH állított	0	0	0	0	0

A **12. táblázatból:** leolvasható, hogy az öt kórokozó közül az *E.faecalis* és az *E.cloacae* törzssel szemben a legnagyobb a gátló hatás a hazai szilvalé esetében. A *Lactobacillus salivarius* HA-118 és *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71 törzsek egyik

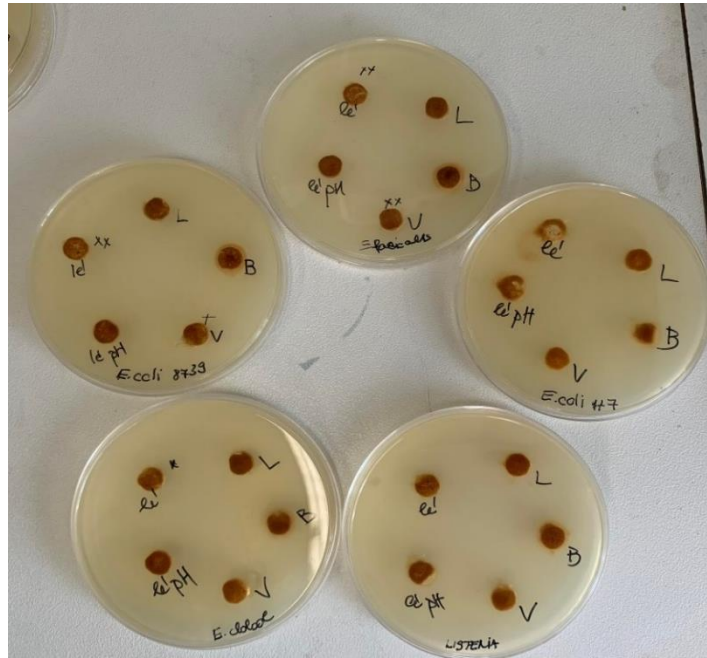
kórokozóval szemben sem mutattak gátlást, nem volt tapasztalható feltisztulási zóna (10. ábra). A legnagyobb gátlási zóna 2 mm vastag volt a szilvalé minták (11. ábra) esetén, tehát már maga a gyümölcsle is tartalmazott olyan komponenseket, melyek a kórokozók szaporodását gátolta vagy a szilvalé savas kémhatása is lehet az ok. Kísérletem során az *E.faecalis* és *E.cloacae* törzsekkel szemben tapasztalható 1mm-es feltisztulási zóna, a vegyes kultúrák fermentált és az eredeti szilvalé alkalmazásakor.



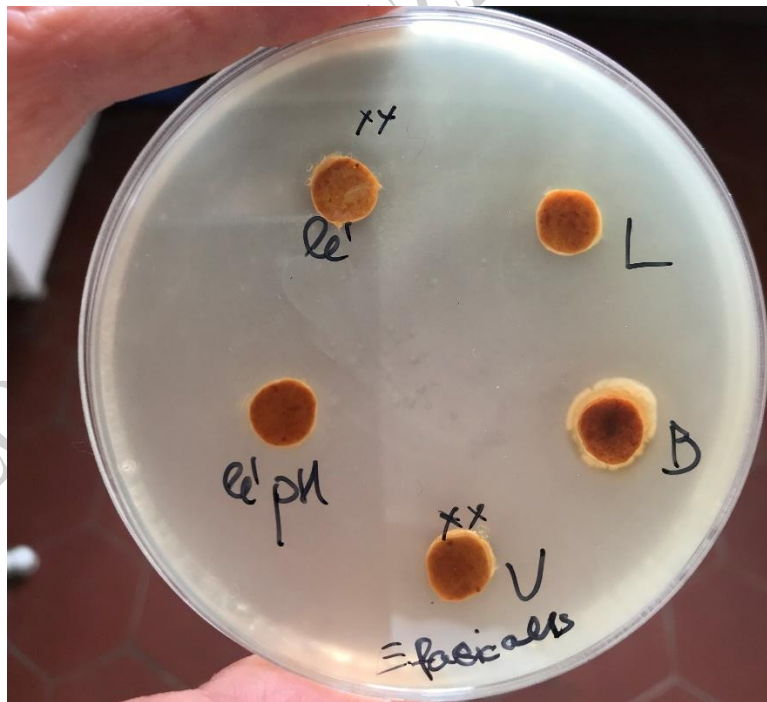
8. ábra: Biotta szilvalé feltisztulási zónái különböző kórokozókkal szembe



9. ábra: Biotta szilvalé feltisztulási zónái *E.coli* 8739 és *E.faecalis* kórokozókkal szemben



10. ábra: Hazai frissen facsart szilvalé feltisztulási zónái különböző kórokozókkal szemben



11. ábra: *E. faecalis* törzsszel szembeni gátló hatás a hazai szilvalé esetén

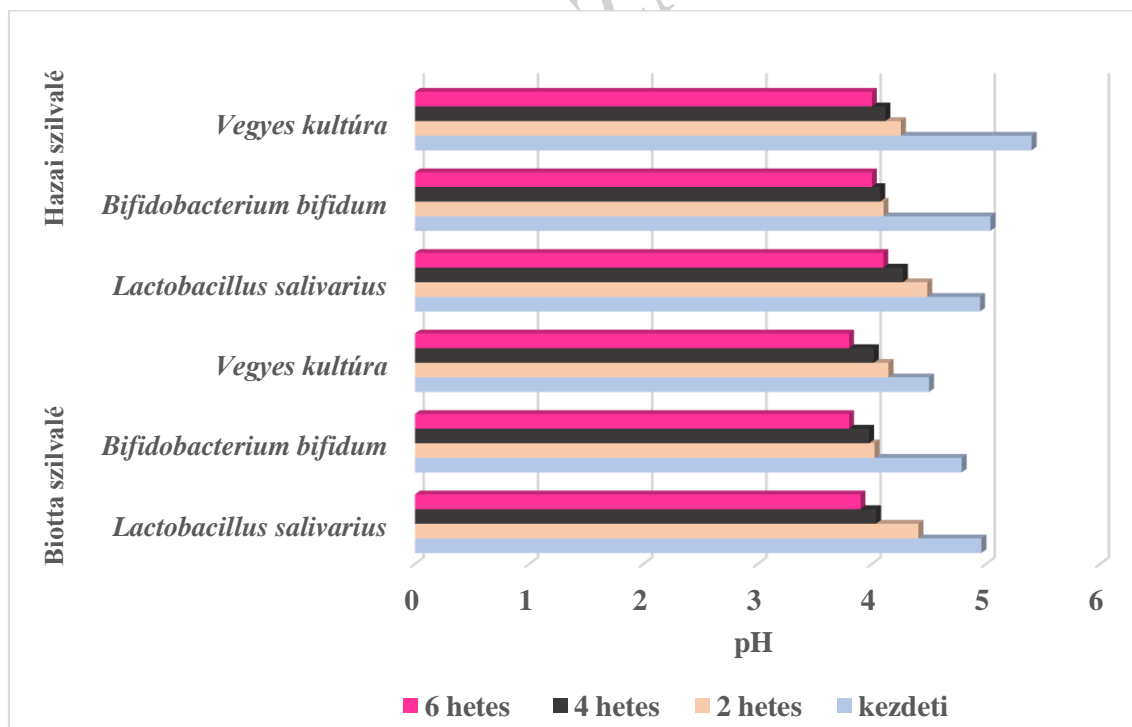
5.4. Tárolási kísérlet

Az egyik legfontosabb követelmény a probiotikus termékekkel szemben, hogy megfelelő sejtkoncentrációban megtartsák életképességüket a fogyasztásig, és megőrizték funkcionális tulajdonságaikat a termék előállítása és tárolása során ahhoz, hogy megfelelő egészségügyi hatást biztosítsanak. A tárolási kísérlethez hazai gyümölcsből préselt és kereskedelmi forgalomban lévő fermentált szilvalevet alkalmaztam. A fermentációt *Lactobacillus salivarius* HA-118, *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71 és vegyes kultúrával végeztem. Életképességüket 6 hetes tárolás során vizsgáltam hűtött körülmények között és szobahőmérsékleten, ez utóbbinál 2 hetente történő mintavételezéssel.

5.4.1. Szobahőmérsékleten történő tárolás eredményei

5.4.1.1 pH alakulása

A tárolási kísérlet során minden mintavétel után megmértem a fermentált szilvalevek pH-jának alakulását. A 6 hét alatt történő pH változásokat a **12. ábrán** mutatom be.

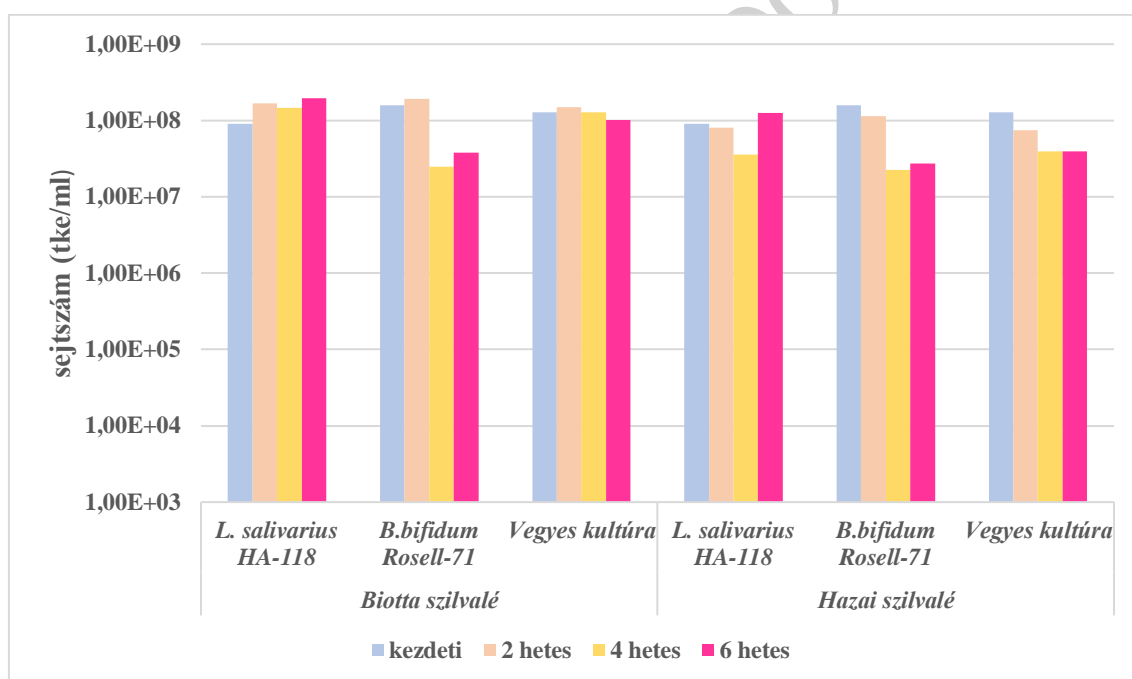


12. ábra: pH értékek alakulása a 6 hetes tárolás folyamán gyümölcslevekben, szobahőmérsékleten

Megfigyelhető a **12. ábrán**, hogy a szobahőmérsékleten uralkodó körülmények közt, már a 2. héten leesett a pH 4,5-4 értékre. A legkisebb pH érték a *B.bifidum* Rosell-71 törzssel és a vegyes kultúrával fermentált Biotta szilvalében mérhető. A leglátványosabb pH csökkenés a hazai szilvalében lévő vegyes kultúrájánál látható, mivel a kezdeti pH=5,4-ről egészen pH=4-ig csökkent a kémhatása. Mindkét szilvalé esetében elmondható, hogy a gyümölcslemben a végső pH értéke pH=3,9-4 közötti, mely a gyümölcsben lévő prebiotikus komponensek jelenlétében lehetővé teszi az életképesség megőrzését a baktériumok számára.

5.4.1.2 Sejtszám alakulása

A 6 hetes tárolási kísérletben a sejtszámok alakulását a következő diagramon (**13. ábra**) szemléltetem, szobahőmérséklet körülmények között.



13. ábra: Sejtszámok alakulása 6 hetes tárolási kísérlet alatt, szobahőmérsékleten

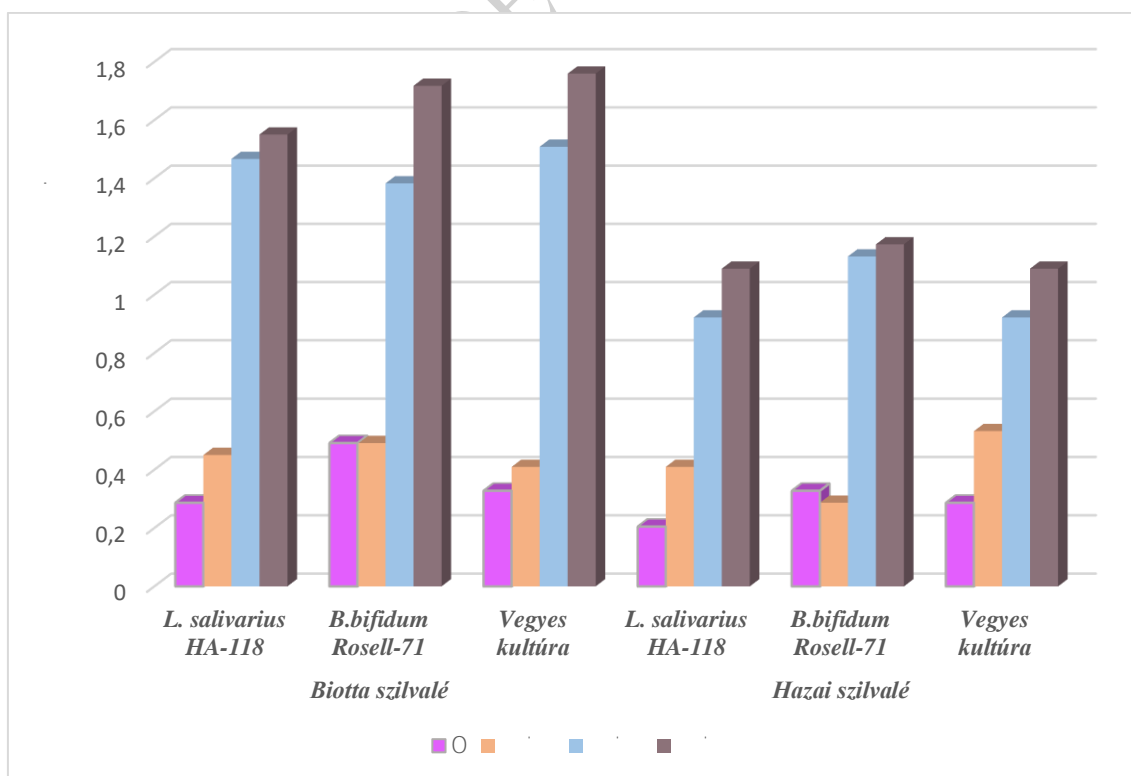
A **13. ábrán** megfigyelhető, hogy a *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71-nél a sejtszám a kezdeti $1,58 \cdot 10^8$ TKE/ml-ről lecsökkent $2,46 \cdot 10^7$ TKE/ml-re a 4. hét elteltével a Biotta szilvalében. A *Lactobacillus salivarius* HA-118 törzsnél kisméretű sejtszám növekedés figyelhető meg a 6. hét végére, a kezdeti $9 \cdot 10^7$ TKE/ml-ről a sejtszám $1,94 \cdot 10^8$ TKE/ml-re emelkedett a Biotta szilvalében, ennek oka, hogy a 24 óra alatt e törzsnél volt tapasztalható a legmagasabb pH érték, ami arra enged következtetni, hogy a

szobahőmérsékleten való tárolás során még tovább tudtak szaporodni, s ezzel együtt sejtszámuk is megemelkedett. Ezzel ellentétben a vegyes kultúra esetén elmondható, hogy számottevő változás nem volt tapasztalható. A Biotta szilvaléhez hasonlóan a hazai szilvalénél is a *Lactobacillus salivarius* HA-118 törzsnél minimális sejtszám növekedés volt tapasztalható a 6 hét elteltével. A vegyes kultúránál elmondható, hogy dinamikus csökkent a sejtszám a 6. hét végére a hazai szilvalében. Összehasonlítva a gyümölcsleveket elmondható, hogy egyik minta esetében sem csökkent 10^6 TKE/ml alá a sejtszám a 6. hét folyamán, amiből az a következtetést vonható le, hogy az adott paraméterek mellett mindegyik törzs képes szobahőmérsékleten megtartani életképességét.

5.4.1.3 Titrálható savtartalom

Munkám során megvizsgáltam különböző probiotikus törzsek titrálható savtartalmát a kétfajta szilvalében. A mintákat 6 héten keresztül vizsgáltam, 2 hetente vettem mintát a szobahőmérsékleten tárolt szilvalevekből. A hűtött mintát a 6. hét elteltével vizsgáltam.

A 6 hetes minták titrálható savtartalmát a következő diagramon (14. ábra) szemléltetem, szobahőmérsékleti körülmények között.



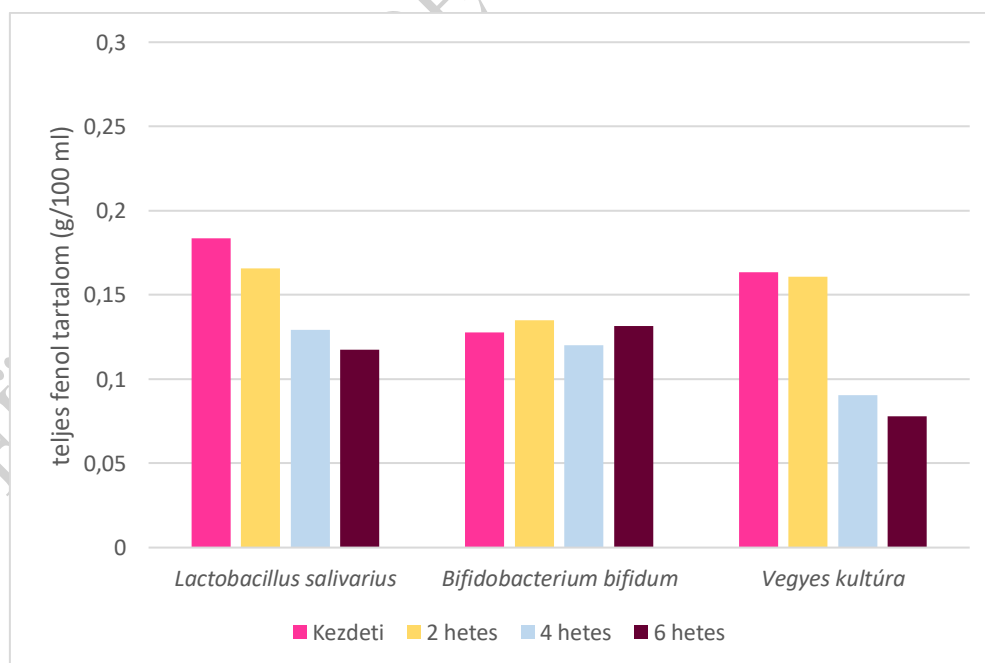
14. ábra: Titrálható savtartalom alakulása 6 hetes tárolás alatt szobahőmérsékleten

Megállapítható, a diagram (**14. ábra**) alapján, hogy a Biotta szilvalé 6. hét elteltével minden esetben kiemelkedő savtartalommal rendelkezett. A legnagyobb érték a Biotta szilvalé vegyes kultúras fermentációja esetén látható, 1,75g /100ml. Az ábrán nagyon jól megfigyelhető, hogy mindkét gyümölcsle esetében a titrálható savtartalom a 2. hét után ugrásszerűen növekedett, mivel a baktériumok a szilvalében lévő maradék cukrot hasznosították szerves savak termelése mellett. A hazai szilvalében lévő baktériumok esetén kisebbek a titrálható sav tartalom értékek a fermentált Biotta szilvaléhez képest, s a legnagyobb titrálható savtartalom a *B.bifidum Rosell-71* törzssel fermentált szilvalében mérhető, 1,17g/100 ml.

5.4.1.4 Összes polifenol-tartalom meghatározás eredményei

Kísérletemben, megvizsgáltam a gyümölcslevek teljes fenol tartalmát is. A kalibrációs egyenest galluszsav segítségével vettem fel, és a kapott eredményeket a **15. és 16. ábrán** szemléltetem.

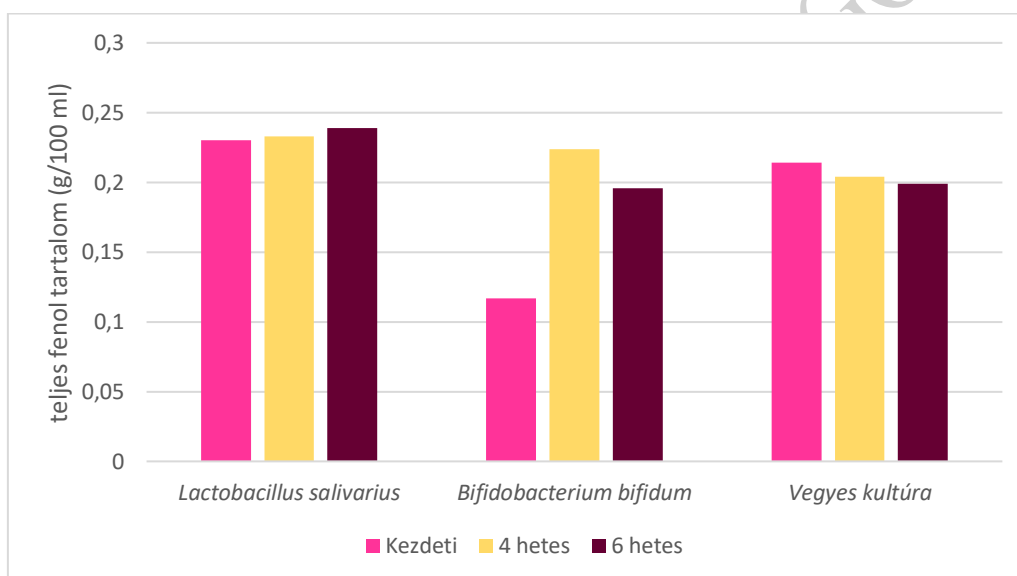
A 6 hetes tárolási kísérletben az összes polifenol-tartalom alakulását a hazai szilvalében a következő diagramon (**15. ábra**) mutatom be, szobahőmérsékleti körülmények között.



15. ábra: Hazai szilvalé összes polifenol-tartalom alakulása 6 hetes tárolás során, szobahőmérsékleten

A TPC módszer eredményeit tekintve megállapítható, hogy a tárolási kísérlet során a *B.bifidum* Rosell-71 esetén detektáltam a legkisebb antioxidáns aktivitást 0,13 g/100ml-t a fermentáció végén, mely nem változott a 6 hetes tárolást követően sem. A diagramról leolvasható, hogy a polifenol-tartalom a vegyes kultúra és *Lactobacillus salivarius* HA-118 esetén dinamikusan csökkent egészen 0,07 g/100ml-ig illetve 0,12 g/100ml-ig.

A 6 hetes tárolási kísérletben az összes polifenol-tartalom alakulását a Biotta szilvalében a következő diagramon (16. ábra) szemléltetem, szobahőmérsékleti körülmények között. A polifenol tartalom a Biotta szilvalében magasabb, mint a hazai szilvalében, a tejsavbaktériummal fermentált gyümölcsleében az értékek 0,23 g/ 100ml, illetve 0,18 g/100ml.



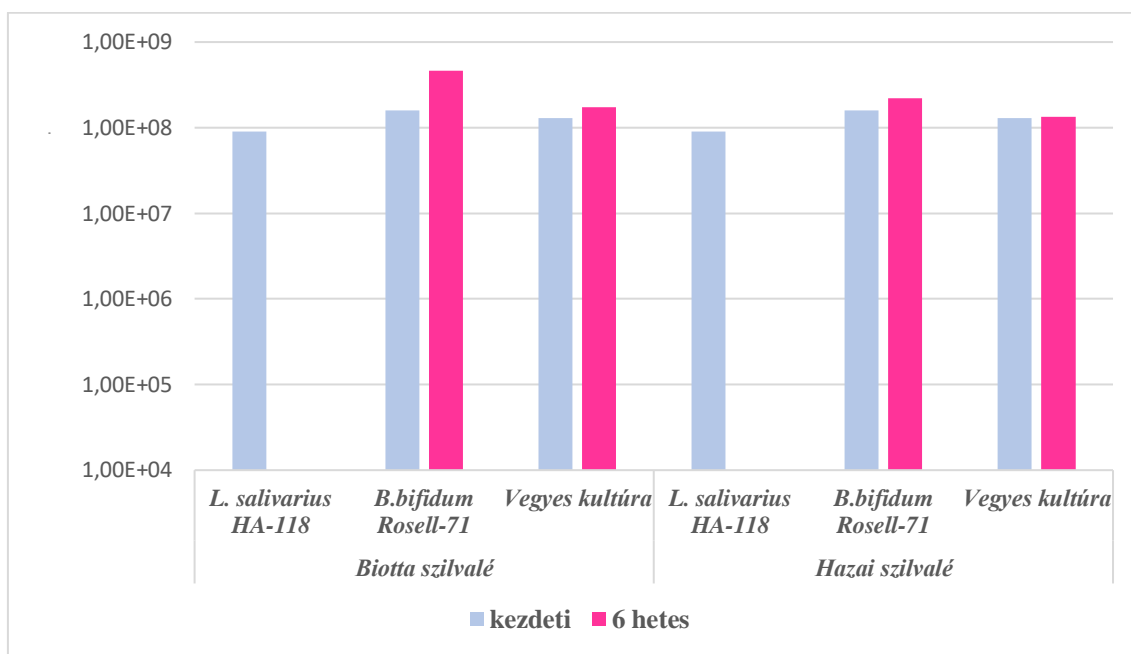
16. ábra: Biotta szilvalé összes polifenol-tartalom alakulása 6 hetes tárolás során, szobahőmérsékleten

A diagramról leolvasható, hogy a legmagasabb polifenol-tartalom a *Lactobacillus salivarius*, HA-118 -nál volt tapasztalható, mely nem változott a szobahőmérsékleten való tárolás során, 0,24 g/100 ml volt a 6 hét elteltével. A *B. bifidum* Rosell-71 polifenol-tartalma a kezdeti 0,12 g/100 ml-ről ugrásszerűen megemelkedett 0,22 g/100 ml-re a 4. hét végére. A vegyes kultúrával fermentált szilvalé esetén minimális csökkenés volt tapasztalható, nagyobb stabilitás jellemezte ezen termékeket, mint a hazai szilvalevet.

5.4.2. Hűtött körülmények között történő tárolás eredményei

5.4.2.1 Sejtszám alakulása

A 6 hetes tárolási kísérlet sejtszám változásait hűtött körülmények között a következő diagramon (17. ábra) mutatom be.

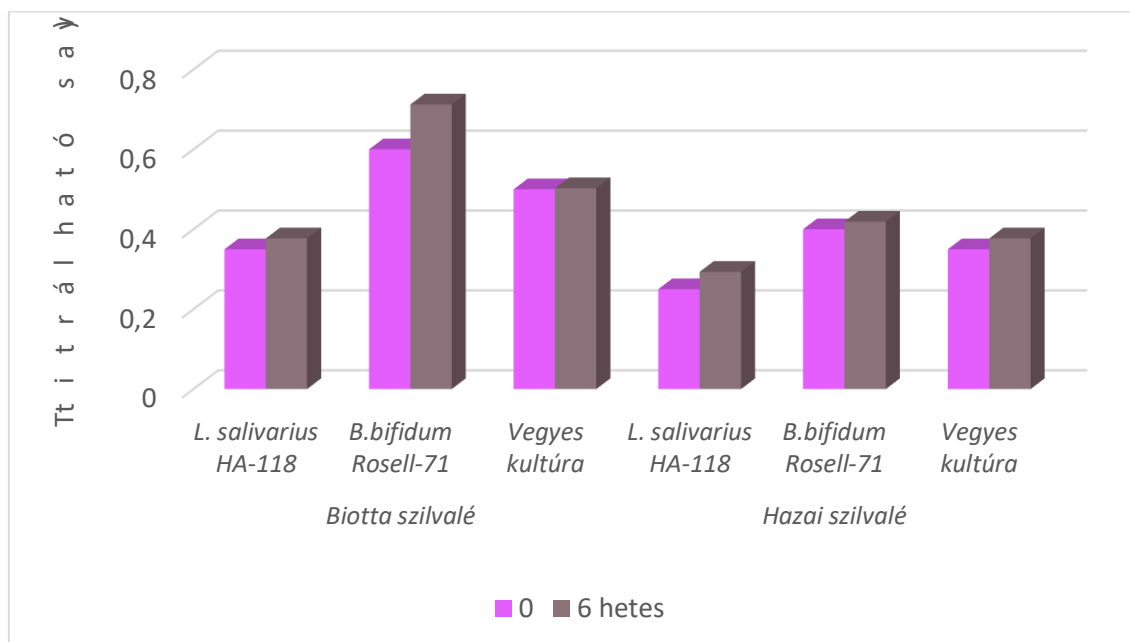


17. ábra: Sejtszámok alakulása 6 hetes tárolási kísérlet alatt, hűtött körülmények között

Megállapítható, a diagramok (13.,17. ábra) alapján, hogy a tárolási hőmérséklet milyen mértékben befolyásolja a különböző baktériumok túlélését. Hűtött körülmények között mindkét fermentált szilvalében a *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71 mutatott kis mértékű sejtszámnövekedést, a kezdeti $1,58 \cdot 10^8$ TKE/ml értékről a sejtszám $4,63 \cdot 10^8$ TKE/ml-re növekedett a 6 hetes tárolás során. Mindkét gyümölcsleében a vizsgált tejsavbaktérium sejtszáma jelentős csökkenést mutatott, az élő sejtszáma kisebb volt mint 10^4 TKE/ml. Ezen eredmények következtében (13.,17. ábra) elmondható, hogy hűtőszekrényben tárolt mintáknál a mikroorganizmusok túlélése rosszabb volt, mivel a *L. salivarius* HA-118 nem tudta megtartani életképességét a 6 hetes tárolás során.

5.4.2.2 Titrálható savtartalom mérése

A 6 hetes minták titrálható savtartalmát a következő diagramon (18. ábra) mutatom be, hűtött körülmények között.

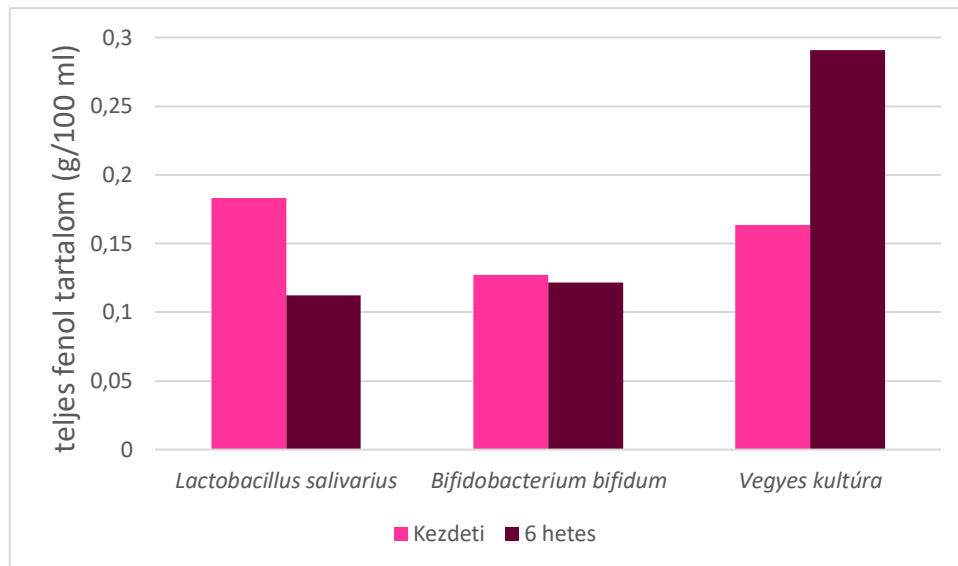


18. ábra: Titrálható savtartalom alakulása 6 hetes tárolás alatt, hűtött körülmények között

A 14., 18. ábráról leolvasható, hogy a kezdeti savtartalomhoz képest, hűtött körülmények között nem eredményezett olyan szintű savtartalom növekedést, mint szobahőmérsékleten. Hűtött körülmények között a legmagasabb savtartalom a *B. bifidum* Rosell-71-nél látható 0,71 g/100ml, a vegyes kultúránál a savtartalom gyakorlatilag teljesen megegyezik a kezdeti 0,5g/100ml értékkel a Biotta Szilvalében. A hazai fermentált szilvalében a savtartalom értéke minimális, és 6 hét elteltével sem változott, ami stabil terméket eredményez hűtőtárolás mellett.

5.4.2.3 Összes polifenol-tartalom meghatározás eredményei

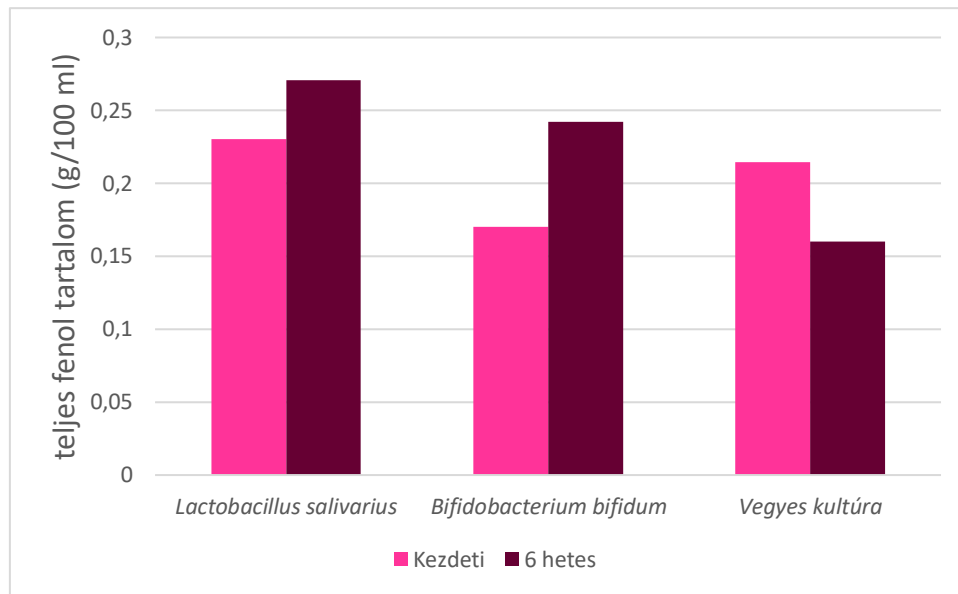
A 6 hetes tárolási kísérletben az összes polifenol-tartalom alakulását a hazai szilvalében a következő diagramon (19. ábra) szemléltetem, hűtött körülmények között.



19. ábra: Hazai szilvalé összes polifenol-tartalom alakulása a 6 hetes tárolás során, hűtött körülmények között

A **19. ábráról** leolvasható, hogy a *Lactobacillus salivarius* HA-118 polifenol-tartalma csökkent a 6 hét elteltével, míg a *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71-nél jelentős változás nem volt tapasztalható, ebből feltételezhető, hogy a mintában lévő baktérium metabolizmusa nem befolyásolta a polifenol tartalmat. Eredményeimből következtethető, hogy a tárolási idő ugyanis szignifikánsan nem befolyásolta a szilvalé összes polifenol-tartalmát. Ugyanakkor a legmagasabb polifenol-tartalom értéket a vegyes kultúra fermentációjában tapasztaltam, 02,29 g/100 ml a 6. hét elteltével.

A 6 hetes tárolási kísérletben az összes polifenol-tartalom alakulását Biotta szilvalében a következő diagramon (**20. ábra**) szemléltetem, hűtött körülmények között.



20. ábra: Biotta szilvalé összes polifenol-tartalom alakulása a 6 hetes tárolás során, hűtött körülmények között

A diagram alapján megállapítható, hogy a Biotta szilvalében fermentált *L.salivarius* HA-118 és a *B.bacterium* Rosell-71 törzseknél volt tapasztalható magasabb a polifenol-tartalom érték. Összehasonlítva, a **19. ábrával** elmondható, hogy a Biotta szilvalében fermentált minták nagyobb polifenol éréket mutattak, mint a hazai szilvalében. Ennek magyarázata a különböző interferenciát okozó komponensek, mint például a C-vitamin tartalom, ásványi elemek, fehérjék stb. tartalmában rejlik. Ezek mellett, feltételezhető, hogy azért nem látunk szorosabb korrelációt az értékek között, miszerint inkább a szintelen, világos flavoid vegyületek okozzák a szorosabb összefüggést. A polifenol tartalom növekedése a tárolás során a rostokból felszabaduló komponensekből eredhet.

Ugyanakkor Lovász (2018) gránátalma és céklalevek 1:1 arányú elegyeit fermentálta probiotikus baktériumokkal, s megállapította, hogy a *L. acidophilus* La-5, *L. casei* 01 és *L. plantarum* HA-119 esetében a fermentációs idő nem befolyásolta a TPC eredményeket. Ezzel szemben a *L. plantarum* 299v törzsnél csökkenés látható, míg fermentáció 16. órájában az eredeti antioxidáns-kapacitás 83%-a, addig a 24. órában csupán 65%-a maradt meg (Lovász, 2018).

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Napjainkban egyre nagyobb az igény, olyan élelmiszerek iránt melyeknek egészségvédő hatása van a szervezetre. A funkcionális élelmiszerek kiváló források ennek elérésében, mivel fogyasztásuk jobb egészséghez és közérzethez vezet azon túl, hogy a betegségek megelőzésében is nagy szerepük van. A legelterjedtebb ilyen élelmiszerek, a probiotikumot tartalmazó termékek, melyek segítenek a szervezetben lévő bélmikrobióta egyensúlyának fenntartásában. A probiotikummal dúsított termékekhez leggyakrabban *Bifidobacterium*-kat és *Lactobacillus*-kat alkalmaznak.

A hazai piacon a legnépszerűbb probiotikus termékek tejalapúak, azonban egyre nagyobb az igény a tejmentes termékekre, melyet a laktóz intoleranciában szenvedők, a tejfehérje allergiával küzdők, illetve vegán életmódot folytató személyek is fogyaszthatnak. Ez megnyitotta az utat olyan alternatív probiotikus termékek fejlesztése iránt, melyeknek alapját a gabonafélék, zöldségek és gyümölcsök adják.

A fent említett okok ösztönöztek arra, hogy egy nem tej alapú, probiotikus baktériumokkal fermentált szilvalé beltartalmi paramétereit és a mikrobák életképességét vizsgáljam. Méréseimhez két fajta szilvalevet, valamint 3 *Lactobacillus* és 3 *Bifidobacterium* nemzetségbe tartozó probiotikus törzset használtam, melyek a következők voltak: *Lactobacillus plantarum* 299v, *Lactobacillus casei* 01, *Lactobacillus salivarius* HA 118, *Bifidobacterium lactis* Bb12, *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71, *Bifidobacterium longum* DSM 16603. Mindkét szilvalében mono-, és vegyes kultúrák erjesztést is vizsgáltam, 24 és 48 órás fermentációs idővel. Meghatároztam a sejtszám, pH, antioxidáns-kapacitás változást, illetve a gyümölcslevek titrálható-savtartalmát, továbbá antimikrobás hatását is vizsgáltam agarlyuk diffúziós módszerrel kórokozó törzsekkel szemben.

Elsőként 24 és 48 órás fermentáció során, követtem a pH változást hígítatlan és kétszeresen hígított szilvalé esetében. A vizsgálatomból kiderült, hogy a fermentáció során a hígított szilvalében a *Lactobacillus* törzsek közül a *L.plantarum* 299v törzs mutatta a legjelentősebb pH csökkentést, míg a *Bifidobacterium* törzseknél a *B.bifidum* Rosell-71 törzssel fermentált szilvalé pH-ja csökkent a legjobban. A 48 órás fermentáció végére mindkét törzs pH értéke pH=4 körüli értékre csökkent.

Ezt követően az hígított szilvalével dolgoztam tovább, melybe külön-külön probiotikus törzseket oltottam be, és megvizsgáltam hogyan alakulnak a sejtszámok 24

óras fermentáció során. Minden általam vizsgált probiotikus törzs jól szaporodott szilvalében, a legnagyobb sejtszámot a *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71 törzsnél tapasztaltam, $9,6 \cdot 10^8$ TKE/ml-t.

A monokultúras fermentációk mellett készítettem egy vegyes kultúras beoltást is a szilvalé fermentációjához, amelyhez a *Lactobacillus salivarius* HA-118 és a *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71 törzsekre esett a választásom. 48 órás fermentáció befejezésével arra a következtetésre jutottam, hogy vegyes kultúra esetén csökkent a leggyorsabban a pH-érték. A sejtszám alakulását tekintve, azt tapasztaltam, hogy 24 óra optimális a mikroorganizmusok szaporodásához mivel, 24. órát elérve már számottevő növekedés nem volt tapasztalható. Ennyi idő alatt voltak képesek elérni a maximális sejtszám növekedést.

Továbbá megvizsgáltam a *Lactobacillus salivarius* HA-118, a *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71 és ezek vegyes kultúrájával két fajta fermentált szilvalé antimikrobás hatását agarlyuk diffúziós módszerrel. A kísérletet 5 féle kórokozó apatogén törzsével szemben vizsgáltam. Biotta szilvalé esetében több esetben is tapasztaltam feltisztulási zónát, de a legjobbnak a *Bifidobacterium bifidum* Rosell-71 törzssel fermentált gyümölcsle bizonyult, melynél 2 mm-es gátlási zónák voltak láthatóak. Hazai szilvalé is mutatott 2mm vastag gátlási zónát, a többi mintával szemben tehát ez arra enged következtetni, hogy már maga a gyümölcsle is tartalmazott olyan komponenseket, melyek a kórokozók szaporodását gátolta, illetve a pH 4 alatti kémhatás is okozhatta a gátló hatást.

Végezetül egy 6 hetes tárolási kísérletet valósítottam meg, szobahőmérsékleten és hűtött körülmények között. A sejtszámok változásának tekintetében elmondható, hogy szobahőmérsékleten mindegyik vizsgált probiotikum meg tudta tartani életképességét, mivel sejtszámuk nem csökkent 10^6 TKE/ml alá 6 hét alatt. Hűtött körülmények között elmondható, hogy a mikroorganizmusok túlélése a *Lactobacillus salivarius* HA-118 kivételével jobb, mint szobahőmérsékleten tárolt minták esetében.

Titrálható savtartalmat is meghatároztam a 6 hetes tárolás során, amiből kiderült, hogy szobahőmérsékleten a Biotta szilvalében lévő vegyes kultúránál volt tapasztalható a legnagyobb savtartalom, 1,7g/ 100ml. Hűtött körülmények között a legmagasabb savtartalom a *B.bifidum* Rosell-71-nél volt látható 0,71 g/100ml a Biotta szilvalében, ezzel ellentétben a hazai gyümölcsleiben a savtartalom változás minimális volt mindegyik minta esetén. Tehát, hűtött körülmények között a baktériumok megtartották stabilitásukat a tárolás során.

Megvizsgáltam a polifenol-tartalom alakulását, melyből megállapítható, hogy szobahőmérsékleten a *Lactobacillus salivarius*, HA-118 esetén volt a legmagasabb az antioxidáns-aktivitás a Biotta szilvalében. Hűtött körülmények között, az értékek minimális eltérést mutattak, melyből az a következtetés vonható le, hogy a baktériumok anyagcsere tevékenysége nem befolyásolja a polifenolt-tartalmat.

Összegezve, a szilvalé megfelelő szubsztrátumnak bizonyult a *L.casei* 01, *L.salivarius* HA 118, *B.lactis* Bb12, *B.bifidum* Rosell-71 törzsek számára mindkét gyümölcsle esetében.

L.salivarius HA-118 *B.bifidum* Rosell-71, illetve vegyes kultúrájukkal fermentált szilvalevek 6 hetes tárolása után az a következtetést vonható le, hogy az adott paraméterek mellett mindegyik törzs képes szobahőmérsékleten megtartani életképességét, s egyik minta esetében sem csökkent le az élősejtszám 10^6 TKE/ml alá.

A szilva alapú fermentációs vizsgálataim eredményei ígéretesek, mivel megalapozhatják olyan nem tej alapú, több hétig eltárolható probiotikus termékek előállítását, melyeket speciális táplálkozást igénylő emberek számára is elérhető, amellet, hogy számos jótékony hatását megőrzi.

7. FELHASZNÁLT IRODALOM

- Antus, S., & Mátyus, P. (2010). *SZERVES KÉMIA III*. Budapest: Nemzedékek Tudása Tankönyvkiadó.
- Asmus, K. D., & Bonifacic, M. (2000). Free radical chemistry. In C. K. Sen, L. Packer, & O. P. Hanninen, *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise, Elsevier, Chapter* (old.: 1. 3-56).
- Bíró, G., & Lindner, K. (1995). *Tápanyagtáblázat-kivonat*. Budapest: Medicina Könyvkiadó Rt.
- Birwal, P., Deshmukh, G., Saurabh, S., & Pragati, S. (2017). Plums: a brief introduction. *Journal of Food, Nutrition and Population Health*, 1-5.
- Cornetti, U. (2009). Antioxidant use in nutraceuticals. *Clinics in Dermatology*, (27):175-194.
- Cummings, J., & Macfarlane, G. T. (2002). Gastrointestinal effects of prebiotics. *British Journal of Nutrition* 87.S2, S145-S151.
- Csapó, J., & Albert, C. (2016). *Funkcionális élelmiszerek, múlt, jelen, jövő*. Erdélyi Múzeum-Egyesület.
- Csapó János, & Albert, C. (2018). *Funkcionális élelmiszerek*. Debrecen: Debreceni Egyetemi Kiadó.
- Csapó, J., Albert, C., & Csapóné, K. Z. (2016). *Funkcionális Élelmiszerek= Functional Foods. Sapientia Tankönyvek - Élelmiszer-tudomány*. Kolozsvár: Scientia Kiadó.
- Demeter, P. (2005). *A probiotikumok alkalmazásának lehetőségei*.
- Fenyvessy, J., Csanádi, J., & Jankóné, F. J. (2008). Az élelmiszeripari anyagok minőségi alkalmassága a funkcionális élelmiszer előállításához. In Nagy J., Schmidt J., & Jávora A. (szerk.). Debrecen: Center-Print nyomda.
- Gibson, R. G., & Roberfroid, B. M. (1995). Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *The Journal of Nutrition* 125/6, 1401-1412.
- GOMES, A. M., & MALCATA, F. X. (1999). Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, 10, 139-157.

- Granato, D., F., B. F., Nazzaro, F., Cruz, A. G., & Faria, J. A. (2010). Functional Foods and Nondairy Probiotic Food Development: Trends, Concepts, and Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9: 292-302.
- Holzappel, H. W., Haberer, P., Snel, J., Schillinger, U., & Huis in't Veld, H. J. (1998). A bélflóra és a probiotikumok áttekintése. *International Journal of Food Microbiology*, Volume 41, Issue 2, 85-101.
- Kajtár, C. A., & Pető, J. (2020). Ásványi-anyag tartalom alakulása a szilva gyümölcsében = Development of Mineral Contents in Plum Fruit. *GRADUS*, 7 (2), ISSN 2064-8014, 32-36.
- Kajtár, C., Anikó, & Pető, J. (2020). Ásványi-anyag tartalom alakulása a szilva gyümölcsében= Development of Mineral Contents in Plum Fruit. *GRADUS* 7.2, 32-36.
- Körmendy, I., Stégerné Dr., M. M., Hidegkuti, G., Vukov, K., Biacs, P., Barta, J., . . . Monspartné, D. J. (2007). *Növényi nyersanyagok feldolgozástechnológiai műveletei*. Budapest: Mezőgazda Kiadó.
- Kun, S. (2008). *Nem tejalapú probiotikus élelmiszerek előállítási lehetőségeinek megalapozása*. Budapest: Corvinus Egyetem.
- Lehota, J., & Komáromi, N. (2008). A funkcionális tejtermékek piaci lehetőségei Magyarországon. *AWETH*, 4. Különszám, 528–530.
- Liba, Z., Vaskó, H., & Tóth, M. (2016). Effect of apple on quantitative changes of probiotics bacteria. *Egészségtudomány-A MAGYAR HIGIÉNIKUSOK TÁRSASÁGA* 60, LX. ÉVFOLYAM, 3. SZÁM 100-113.
- Lovász, V. (2018). Probiotikus Lactobacillus törzsek vizsgálata gránátalmalé és céklalé keverékében. *Szakkolgozat*.
- Luckow, T., Sheehan, V., Delahunty, C., & Fitzgerald, G. (2006). Expozíciós, egészségügyi információk és íz-elfedő stratégiák a probiotikus lé érzékszervi minőségének javítására. *Appetite*, 47, 315–323.
- Lugasi, A. (2004). Gyümölcs-és zöldséglevék polifenol-tartalma és in vitro antioxidáns tulajdonságai. *Alkoholmentes italok.*, 2004/1.
- MOMBELLI, B. G. (2000). The use of probiotics in medical practice. . *International Journal of Antibicrobial Agents*, 16 vol. p. 531-536.
- Nagpal, R., Kumar, A., & Kumar, M. (2012). Gyümölcslevek dúsítása és fermentálása probiotikus laktobacillusokkal. *Annals of Microbiology* 62, 1573-1578.

- Nagy, J., Schmidt, J., & Jávorski, A. (2008). A JÖVŐ ÉLELMISZEREI ÉS AZ EGÉSZSÉG. *DEBRECENI EGYETEM AGRÁR- ÉS MŰSZAKI TUDOMÁNYOK CENTRUMA*, 186.
- Piskóti, I., Nagy, S., & Kovács, A. T. (2006). Fogyasztói magatartás a funkcionális élelmiszerek piacán. 117-127.
- Playne, J. M., & Bennett, L. (2003). Functional dairy foods and ingredients. *Australian Journal of Dairy Technology.*, 58. 242-264.
- Polgár, M. (2003). A probiotikumok és prebiotikumok hatása a bélflóra kialakulásában. *Gyermekgyógyászat*, 120-124.
- Rover, R. M., & Brown, C. R. (2013). Quantification of total phenols in bio-oil using the Folin–Ciocalteu method. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 104, 366-371.
- Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J., & Sandholm, M. T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology* 84, 197 – 215.
- Scalzo, J., Politi, A., Pellegrini, N., Mezzetti, B., & Battino, M. (2005). Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition* 21.2, 207-213.
- Szakály, S. (2004). *PROBIOTIKUMOK ÉS HUMÁNEGÉSZSÉG. Vissza a természethez!* Budapest: G-Print Nyomda.
- Szalayné, K. Z. (2009). A tej és tejtermékek felhasználási lehetőségei a gasztroenterológiai betegségek kezelésében. In S. Kukovics (Szerk.), *A tej szerepe a humán táplálkozásban.* (old.: 515-530). Budapest: Melánia Kiadó.
- Tian, L., Xinran, L., Qinyu, Z., Yushan, L., Chenxu, G., Quyu, Y., . . . Tingting, M. (2023). Optimization of strains for fermentation of kiwifruit juice and effects of mono- and mixed culture fermentation on its sensory and aroma profiles. *Food Chemistry: X*, 1-11.
- Tripathi, M., & Giri, S. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods* 9, 225-241.
- Vass, N., Czeglédi, L., & Jávorski, A. (2008). Az állati eredetű funkcionális élelmiszerek jelentősége a humán táplálkozásban. In S. J. Nagy J., *A jövő élelmiszerei és az egészség.* (old.: 49-63 pp.). Debrecen: Center-Print nyomda.
- Vitali, B., Ndagijimana, M., Cruciani, F., & et al. (2010). Impact of a synbiotic food on the gut microbial ecology and metabolic profiles. . *BMC Microbiol*, 10, 4 (2010). <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-4>.

Internet 1.: <https://biotta.ch/en/product/detail/prune>

FÜLÖP SZENDE SZAKDOLGOZAT

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani a rengeteg segítségért, szakmai tudás átadásáért, biztató szavakért, türelemért és bizalomért témavezetőmnek Dr. Bujna Erika egyetemi docensnek és Dr. Nguyen Duc Quang egyetemi tanárnak, hogy hozzájárultak a szakdolgozatom létrejöttéhez.

FÜLÖP SZENDE SZAKDOLGOZAT

NYILATKOZAT

szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Fülöp Szende
A Hallgató Neptun kódja: G7YFPW
A dolgozat címe: Probiotikumokkal fermentált szilva alapú gyümölcslevek előállítása és vizsgálata
A megjelenés éve: 2023
A konzulens tanszék neve: Biomérnök és Erjedéssipari 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 valótlanul 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.

Kelt: 2023. május 09.


Hallgató aláírása


KONZULTÁCIÓS NYILATKOZAT

Fülöp Szende (Neptun azonosítója: G7YFPW) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A szakdolgozatot a záróvizsgán történő védeésre javaslom / nem javaslom.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem

Kelt: Budapest, 2023. május 3.


Belső konzulens