

# **DIPLOMAMUNKA**

Sándor Emőke Csenge - Diplomamunka

Sándor Emőke Csenge  
2023



MAGYAR AGRÁR- ÉS  
ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM

Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet  
Biomérnök és Erjedéssipari Technológia Tanszék

# **Tejsavbaktériumok életképességének vizsgálata vegyes gyümölcslevekben**

Sándor Emőke Csenge  
Budapest  
2023

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

**Szak neve: MSc Élelmiszermérnöki**

**Specializáció neve: Élelmiszer-biotechnológia**

Diplomadolgozat készítés helye: Biomérnök és Erjedésipari Technológia Tanszék

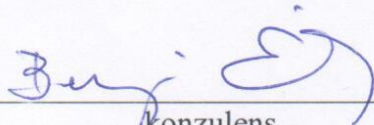
Hallgató: Sándor Emőke Csenge

A diplomadolgozat címe: **Tejsavbaktériumok életképességének vizsgálata egyes gyümölcslevekben**

Konzulens: Dr. Bujna Erika, egyetemi docens

Beadás dátuma: 2023.05.07.

  
\_\_\_\_\_  
diplomadolgozat készítés helyének vezetője  
(Dr. Nguyen Duc Quang)

  
\_\_\_\_\_  
konzulens  
(Dr. Bujna Erika)

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Pomázi Andrea  
specializáció felelős

## Tartalommutató

|       |                                                                             |    |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| 1     | BEVEZETÉS.....                                                              | 1  |
| 2     | CÉLKITŰZÉS .....                                                            | 3  |
| 3     | IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....                                                    | 4  |
| 3.1   | A bél mikrobiotája .....                                                    | 4  |
| 3.2   | Funkcionális élelmiszerek.....                                              | 5  |
| 3.2.1 | Megjelenése, összetevői, csoportosítása.....                                | 5  |
| 3.2.2 | Funkcionális élelmiszerek jogi háttere .....                                | 7  |
| 3.2.3 | Piac, elfogadottság, megítélés .....                                        | 8  |
| 3.3   | Probiotikumok .....                                                         | 13 |
| 3.3.1 | A probiotikumok jótékony hatásai .....                                      | 16 |
| 3.3.2 | Túlélőképesség vizsgálat élelmiszerekben tárolás során.....                 | 18 |
| 3.3.3 | A probiotikumok életképességének javítási lehetőségei .....                 | 20 |
| 3.4   | Nem tej alapú probiotikus italok.....                                       | 24 |
| 3.4.1 | Alkalmazásának előnyei .....                                                | 24 |
| 3.4.2 | Felhasznált gyümölcsök jellemzői.....                                       | 25 |
| 4     | ANYAG ÉS MÓDSZER.....                                                       | 28 |
| 4.1   | Felhasznált mikroorganizmusok .....                                         | 28 |
| 4.2   | Felhasznált tápközegek .....                                                | 29 |
| 4.2.1 | Laboratóriumi tápközegek.....                                               | 29 |
| 4.2.2 | Gyümölcs alapú tápközeg.....                                                | 30 |
| 4.3   | Felhasznált oldatok .....                                                   | 31 |
| 4.4   | Alkalmazott módszerek .....                                                 | 31 |
| 4.4.1 | Gyümöcslé dúsítása és fermentálása probiotikummal .....                     | 31 |
| 4.4.2 | Tárolás .....                                                               | 32 |
| 4.4.3 | pH mérés.....                                                               | 32 |
| 4.4.4 | Sejtszám meghatározás.....                                                  | 32 |
| 4.4.5 | Összes fenolos komponens meghatározása .....                                | 32 |
| 4.4.6 | Titrlható savtartalom meghatározása .....                                   | 33 |
| 4.4.7 | Antimikrobiális hatás vizsgálata agarlyuk diffúzió segítségével .....       | 34 |
| 5     | KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK .....                                   | 35 |
| 5.1   | Dúsított gyümölcsmixben végbemenő változások 4°C-on történő tárolás során . | 35 |
| 5.1.1 | A pH-értékek változásai .....                                               | 35 |
| 5.1.2 | Az életképesség alakulása .....                                             | 36 |
| 5.1.3 | Antimikrobás hatás vizsgálata .....                                         | 37 |
| 5.1.4 | Összes fenolos komponens változása .....                                    | 38 |
| 5.1.5 | Titrlható savtartalom mennyiségének változása .....                         | 39 |

|       |                                                                            |    |
|-------|----------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.2   | Dúsított gyümölcsmixben végbemenő változások 25°C-on történő tárolás során | 40 |
| 5.2.1 | A pH-értékek változásai                                                    | 40 |
| 5.2.2 | Az életképesség alakulása                                                  | 41 |
| 5.2.3 | Antimikrobás hatás vizsgálata                                              | 42 |
| 5.2.4 | Összes fenolos komponens változása 25°C-on történő tárolás esetén          | 42 |
| 5.2.5 | Titrálnakó savtartalom mennyiségének változása                             | 43 |
| 5.3   | Fermentált gyümölcslében végbemenő változások a tárolás során              | 44 |
| 5.3.1 | A pH-értékek változásai tárolás során                                      | 44 |
| 5.3.2 | Az életképesség alakulása                                                  | 45 |
| 5.3.3 | Antimikrobás hatás vizsgálata                                              | 45 |
| 5.3.4 | Összes fenolos komponens változása tárolás alatt                           | 46 |
| 5.3.5 | Titrálnakó savtartalom mennyiségének változása                             | 47 |
| 6     | ÖSSZEFOGLALÁS                                                              | 48 |
| 7     | FELHASZNÁLT IRODALOM                                                       | 51 |

# 1 BEVEZETÉS

„Gyógyszered legyen az ételed, s ételed legyen a gyógyszered”

Hippokratész (Kr.e. 460-375)

Ahogy az emberiség, úgy fejlődött a táplálkozás is az évszázadok során. Míg a középkorban csupán az életben maradás volt az étkezés legfőbb funkciója ma már egy sokkal összetettebb dologról van szó. Napjainkra az egészségtudatosság, mint trend előtérbe kerülése magával hozta a fogyasztók egészséges táplálkozás iránti vágyát, de az egészséges táplálkozás mellett rendkívül nagy hangsúlyt fektetnek a fogyasztók ezen élelmiszerek ízére is.

A felgyorsult életritmusból kifolyólag az emberek az egyszerűen, könnyen elérhető dolgokat keresik, még az ételek vonatkozásában is. A jelenleg tapasztalható társadalmi és gazdasági fejlődések súlyos egészségügyi problémák kialakuláshoz vezethetnek. Az emberek rohanó életmódja és a rájuk nehezedő folytonos, megnövekedett stressz valamint a helytelen táplálkozás következtében kialakulnak az úgynevezett civilizációs betegségek (szívinfarktus, magas vérnyomás, bélproblémák és különböző típusú daganatos megbetegedések). A világ összes halálesetének 59%-át civilizációs betegségek okozzák (Szakály, 2014). A KSH adatai szerint Magyarországon a halálesetek háromnegyede szív- és érrendszeri megbetegedésekből, valamint rosszindulatú daganatokból származik (Internet 1). A kiegyensúlyozott tápanyagbevitellel hozzájárulhatunk a hosszú és egészséges élethez. Az öregedő társadalom idősebb korosztályát sújtó betegségek is megelőzhetők lennének az egészséges táplálkozással, illetve kialakulásuk esélye is csökkenthető lenne általa. Másrészt a megnövekedett egészségügyi ellátási költségek és az egyre magasabb várható élettartam is a minőségi, egészséges életmód követésére ösztönöznek. A fogyasztók egyre tudatosabbá válnak és egyre inkább a funkcionális élelmiszereket keresik a boltok polcain, amelyek a megfelelő tápérték mellett, bizonyítottan jótékonyan hatnak a szervezet működésére és hozzájárulnak az egészség megőrzéséhez, így egyre növekvő igény mutatkozik olyan élelmiszerek iránt melyek funkcionális komponensekkel dúsítottak, úgymint a pre- vagy probiotikumok. (Burgain et al., 2011).

Történelmi és technológiai okokból kifolyólag, valamint a tej tápértéke miatt is, a probiotikus élelmiszerek általában tejalapúak, de a funkcionális élelmiszerek piaca folyamatosan fejlődik, és a változó fogyasztói igények mindig újabb és újabb innovációk kifejlesztését szorgalmazzák. A világ felnőtt lakosságának kb. 2/3-a szenved laktóz

intoleranciában, mely főleg Ázsia és Afrika lakóit érinti, de Európában is kb 5-10 %-ra tehető az érintettek száma (Misselwitz et al, 2013). A laktóz intolerancia mellett előfordulhat még tejfehérje érzékenység is, de vannak olyanok is akik vallási okokból vagy különböző táplálkozási irányzatok követése miatt korlátozott mértékben vagy egyáltalán nem fogyaszthatnak tejet, illetve tejtermékeket. Ennek köszönhetően egyre inkább kezdenek elterjedni a gyümölcs alapú probiotikusan dúsított élelmiszerek is. A gyümölcslevek alapvetően egészséges tápanyaforrásként szerepelnek a köztudatban és természetes módon tartalmaznak minden olyan tápanyagforrást is amelyre a mikroorganizmusnak szüksége van az élettevékenysége fenntartásához. A nehézség azonban abban rejlik, hogy a fogyasztók számára is megfelelő érékszervi és táplálkozási tulajdonsággal rendelkező terméket tudjunk előállítani úgy, hogy mindemellett a probiotikumok életképesek maradjanak a termékek tárolása alatt is, valamint ellenálljanak az emésztőrendszer szélsőséges körülményeinek is.

## 2 CÉLKITÚZÉS

A különböző gyümölcsalapú probiotikus készítmények nemcsak a speciális diétát követők, étel intoleranciával és allergiában szenvedők számára lehetnek vonzó termékek, hiszen kellemes ízüknek, illatainak, aromájuknak köszönhetően kortól, nemtől függetlenül széles társadalmi réteg számára kedvelt alapanyagok.

Diplomamunkám megírása során célul tűztem ki, hogy áttekintést nyújtsak a probiotikumok, valamint a nem tej alapú probiotikus funkcionális élelmiszerek kedvező élettani hatásairól és olyan gyümölcs alapú dúsított és fermentált probiotikus ital alkossak, amely megfelelő számú jótékony hatású baktériumot tartalmaz és ami az életképességét hosszú távon is meg tudja őrizni. Kísérleteim elvégzéséhez olyan gyümölcsöket választottam, melyek hazánkban is megteremnek, ezáltal könnyen, elérhetőek, nem túl költségesen beszerezhetőek. A mintákat dúsítva és fermentálva szeretném vizsgálni, melyekben 2 hónapon át kívánom követni a tejsavbaktériumok számát, a gyümölcslevek pH-ját valamint azok szénhidrát- és szervessav tartalmát.

Kísérleteim végrehajtásához a *Lactiplantibacillus plantarum* 299v törzset választottam, és célul tűztem ki a probiotikum törzs önmagában, mikrokapszulázott formában valamint prebiotikummal való kiegészítést követően történő bejuttatását a vizsgálandó a gyümöcslémátrixba. Dolgozatomban szeretnék kitérni a nem tej alapú probiotikus termékek különböző hőmérsékleten megvalósított tárolása során bekövetkező legfontosabb beltartalmi változásokra, melyek nagyban hozzájárulnak a termék minőségéhez és elfogadottságához a fogyasztás során.

A probiotikum életképességének alakulása

A gyümölcslevek polifenol tartalmának meghatározása a tárolás során

Szerves savtartalom alakulása a tárolás során

Antioxidáns kapacitás vizsgálata

Antimikrobiális hatás vizsgálata



## 3 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 3.1 A bél mikrobiotája

Az emberi bélmikrobiótát kb  $10^{14}$  mikroorganizmus alkotja, amely 500-1000 különböző baktériumfajból épül fel, össztömege pedig megközelíti a 2 kg-ot (Bermon et al., 2015).

A csecsemő bélrendszere születéskor még steril, a baktériumok kolonizációja csak ezt követően indul meg. A kolonizációt nagyban befolyásolja a táplálás módja, a környezeti feltételek, de még az is, hogy fejlett vagy fejlődő országba született-e (Karlsson et al., 2013). Az újszülött szervezete először az anya fekális és vaginális mikrobiotájával kerül kapcsolatba, így elsőként az anaerob mikroorganizmusok (*Escherichia coli* és a *Streptococcus*-ok) telepednek meg, amelyek élettevékenységének során a környezet folyamatosan anaerobbá válik és így megjelenhetnek az anaerob tulajdonsággal rendelkező baktériumok is.

Nagy eltérés figyelhető meg a táplálás módjának függvényében is, hiszen míg a szoptatott, anyatejjel táplált csecsemőknél a bifidobaktériumok vannak túlsúlyban addig a tápszert fogyasztók sokkal összetettebb bélmikrobiótával rendelkeznek, náluk előfordulnak *Clostridium*-ok, *Bacteroides*-ek és *Streptococcus*-ok is. Nemcsak a táplálás módja határozza meg a bélmikrobióta összetételét, hanem az életkor előrehaladtával a *Bifidobacterium*-ok száma csökken míg a *Lactobacillus*ok, *Enterococcus*ok száma pedig nő (Ruan et al. 2020). Ezek mellett jelentős hatással van a közvetlen környezetünk is a bélrendszerben élő baktériumokra, de még az is, hogy kikkel élünk egy háztartásban (Dill-Mc Farland et al., 2019).

A tápcsatorna különböző szakaszain a mikrobák száma és típusa is jelentős különbségeket mutat, melyet az oxigén expozícióval és a pH-val, mint fő befolyásoló tényezővel hoznak összefüggésbe (Graf et al., 2015). Az alacsony pH és az oxigén jelenléte miatt a gyomorban viszonylag kevés a baktériumok száma, csupán csak  $10^3$  sejt/g, ezek is leginkább a fakultatív anaerob *Streptococcus* fajok. A vékonybélben a mikroorganizmusok száma már megközelíti  $10^4$  -  $10^6$  sejt/g-ot, a vastagbélben pedig már egészen magas,  $10^{11}$ - $10^{12}$  sejt/g-mal találkozhatunk. A vastagbél felső szakaszának mikrobiotáját túlnyomóan fakultatív anaerobok alkotják (*Enterobacterium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Bacillus* fajok), az alsó szakaszt viszont a szigorúan

olyan anaerobok uralják mint a *Bifidobacterium*-ok, *Peptococcus*-ok, és *Clostridium*-ok (Salminen et al., 1998).

A bennünk élő baktériumok sokasága rengeteg pozitív hatással támogatja a szervezetet. Hozzájárulnak a bél homeosztázisának fenntartásához, a hámsejtek gyarapodásához, befolyásolják a xenobiotikus anyagcserét, valamint az anyagcserebetegségekre is kihatással vannak (Karlsson et al., 2013). Aktívan részt vesznek az immunrendszer modulációjában, ezért az emberi bél mikrobaprofiljának vizsgálata és a bélflóra összetételének elemzése jelentős lépést jelenthet a személyre szabott orvoslás felé. A bélflóra egyedülálló és változatos, szorosan összefügg az egyén táplálkozási szokásaival, az életmódjával és az egészségi állapotával. Az ilyen információk használata lehetővé teszi, hogy az orvosok személyre szabottabb terápiákat javasoljanak, amelyek jobban illeszkednek az egyének egyedi biológiájához. Az ilyen személyre szabott megközelítések hatékonyabbak lehetnek a betegségek megelőzésében és kezelésében, továbbá hozzájárulhatnak a betegségek okainak felderítéséhez is (Milani et al., 2016).

## **3.2 Funkcionális élelmiszerek**

### **3.2.1 Megjelenése, összetevői, csoportosítása**

Az élelmiszerek kiegészítése különféle mikrotápanyagokkal több évszázados múltra tekint vissza. A középkorban vasszőget szűrtak az almába, majd bizonyos idő után azt etették vashiányos gyermekekkel, Mexikóban a tortillakészítés során a kukoricát meszes vízben áztatták, ill. mészörleményt adtak a liszthez, ezzel megnövelve annak kalciumtartalmát. Svájcban az 1900-as évek elején kezdték alkalmazni a konyhasó jóddal való kiegészítését a golyva megelőzésére, mely módszer azóta már az egész világon elterjedt (Csapó et al., 2016).

Magát a „funkcionális élelmiszer” szót először Japánban használták az 1980-as években (Grajek et al., 2005). A funkcionális élelmiszer fogalma a European Commission Concerted Action on Functional Food Science szerint: “Egy adott élelmiszer akkor tekinthető funkcionálisnak, ha fogyasztása – a megfelelő táplálkozás-élettani hatásokon túlmenően –, a szervezet egy vagy több cél-funkciójára kimutathatóan pozitív hatással van úgy, hogy jobb egészségi állapot vagy kedvezőbb közérzet és/vagy a betegségek kockázatának csökkentését éri el.”

A funkcionális élelmiszerek olyan alkotóelemeket tartalmaznak megfelelő mennyiségben, amelyek pozitívan hatnak az életfunkciókra, hozzájárulnak a betegségek

megelőzéséhez, egészségvédő hatást fejtenek ki, összességében pozitív hatással vannak az emberi szervezetre.

Funkcionálissá válhat egy élelmiszer, ha egy vagy több olyan összetevőt nagyobb mennyiségben tartalmaz az átlagosnál, amelyek pozitív hatással vannak egészségünkre. Ezek mellett funkcionális élelmiszernek minősülnek azok is, amelyek valamely komponens csökkentett mennyiségben tartalmazzák – pl. csökkentett zsírtartalom, csökkentett szénhidrátartalom, csökkentett fehérjetartalom (Csapó et al., 2016).

Ahhoz, hogy egy élelmiszert „funkcionálisnak” nevezhessünk, az Élelmiszer- és Gyógyszer-engedélyeztető Szakhatóság jóváhagyása szükséges. Ehhez a gyártónak megfelelő tudományos bizonyítékkal kell alátámasztania, hogy a megjelölt kórállapot és az élelmiszer között kölcsönhatás lép fel. Mivel a szabályozás szerint ezen csoportba tartozó élelmiszereknek a hagyományos élelmiszereknek kell megfelelniük, a tabletták, kapszulák, vitaminok, táplálékkiegészítők nem tartoznak ebbe a csoportba. További előírás az is, hogy az adott élelmiszernek a hatása a megszokott napi mennyiség elfogyasztásakor is meg kell, hogy mutakozzon, és az adott élelmiszer a hétköznapi táplálkozási szokásokba tartozzon (Papp-Bata et al., 2014). A funkcionális élelmiszerek lehetnek olyan tápanyagforrások, melyek már önmagukban, minden kiegészítés nélkül eleget tesznek a feladat betöltésére pl. élelmi rostok, de vannak olyan élelmiszerek is, amiket viszont ki kell egészíteni bioaktív anyagokkal, ilyenek például a probiotikus termékek (Csapó et al., 2016). A funkcionális élelmiszer összetevők főbb osztályait az 1. számú táblázatban ismertetem.

*1. táblázat A funkcionális élelmiszer összetevők főbb osztályai (Holm, 2003)*

| <b>Funkcionális élelmiszer összetevők</b> | <b>Példák</b>                          | <b>Prognosztizált egészségügyi hatás</b>                                                                                                                                                                                     |
|-------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Probiotikumok                             | Tejsavbaktériumok<br>Bifidobaktériumok | Javítják a bélrendszer mikroflóráját és működését,<br>szabályozzák a bélműködést,<br>erősítik az immunrendszert,<br>csökkentik a koleszterinszintet, gátolják a bél kórokozóit és csökkentik a rák kialakulásának kockázatát |

|                                             |                                                                                            |                                                                                                                                                              |
|---------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Prebiotikumok                               | Oligoszacharidok, rezisztens keményítők, pektinek                                          | Ugyanaz, mint a probiotikumoknál, de fokozzák a Ca és a Mg felszívódását is (csökkentik a csontritkulás kialakulásának veszélyét)                            |
| Ásványi anyagok                             | Ca, Mg, Zn                                                                                 | Csontritkulás csökkent kockázata<br>Immunrendszer erősítése                                                                                                  |
| Vitaminok                                   | Folsav, B <sub>6</sub> , B <sub>12</sub>                                                   | A kardiovaszkuláris betegségek csökkent kockázata                                                                                                            |
| Antioxidánsok                               | Tokol típusú vegyületek (pl. E-vitamin), C-vitamin, karotinoidok, flavonoidok, polifenolok | Csökkentik az érlelmeszedés kockázatát, gátolják a rák kialakulását, mérséklék a DNS oxidatív károsodását, késleltetik az öregedést, gyulladásgátló hatásúak |
| Fehérjék, peptidek, aminosavak              | Tripeptidek a tejfehérjékből                                                               | Csökkentik a vérnyomást és befolyásolhatják a fizikai funkciókat                                                                                             |
| Zsírsavak                                   | Omega-3 zsírsavak, CLA (konjugált linolsav), GLA (gamma-linolsav)                          | Csökkentik a kardiovaszkuláris betegségek kockázatát, mérsékelik az ízületi gyulladás tüneteit, a klimaxos problémákat, redukálják a rák kockázatát          |
| Fitokemikáliák (növényi eredetű vegyületek) | Fitoszterinek, béta-glükán, izoflavonok, lignanok                                          | Csökkentik a szérum koleszterint, szabályozhatják a hormon-függő betegségeket és a hőhullámokat                                                              |

### 3.2.2 Funkcionális élelmiszerek jogi háttere

Az élelmiszerbiztonság a világ minden országában fontos tényező, ezért minden ország rendelkezik olyan hatósággal, amelynek feladata az ide vonatkozó szabályok megteremtése, betartatása és felülvizsgálata.

Az Egyesült Államokban. az Élelmiszer Gyógyszer és Kozmetikai Törvény (FDCA) hatálya alá tartozik az élelmiszeripar és az élelmiszer-összetevők szabályozása. A GRAS (Generally Recognized As Safe – általánosan biztonságosnak ítélt) minősítés azt jelenti, hogy az adott vegyület biztonságosnak tekinthető az emberi fogyasztásra. A GRAS minősítés megszerzése két feltételhez kötött. Először is, az adott vegyület biztonságosságára vonatkozó információknak hozzáférhetőnek kell lenniük a tudományos világ számára. Másrészt, nem képezheti vita tárgyát a biztonságossága tudományos körökben, vagyis általánosan biztonságosnak kell, hogy ítéljék (Kumar et al., 2015).

Az európai jogszabályok a funkcionális élelmiszereket nem egy speciális élelmiszer kategóriaként, hanem egy fogalomként határozzák meg (Siró et al., 2008). Az Európai Unióban a funkcionális élelmiszereknek is ugyan azoknak az élelmiszerbiztonsági és minőségi előírásoknak kell megfelelniük, mint a hagyományos élelmiszereknek. Az élelmiszerjelöléssel kapcsolatos rendeletek (79/112/EEC) szabályozzák a funkcionális élelmiszerek forgalomba hozatalát is, és meghatározzák, hogy milyen információkat kell tartalmaznia az ilyen termékek címkéjén (Stanton et al., 2001). A szabályozás azonban különbséget tesz gyógyhatású termékek és a különleges táplálkozási célra használt élelmiszerek között, illetve további nehézséget jelent még az is, hogy az EU tagállamokban nem összeegyeztethetők a szabályozások, mivel más-más egészségügyi célokat fogalmaztak meg a tagországok, de abban legalább egyetértés mutatkozik, hogy már különbséget tettek a gyógyhatású termékek és a különleges táplálkozási célra használt élelmiszerek között.

Az egészségre vonatkozó állítások csak az Európai Parlament és a Tanács 1924/2006/EK rendelete (2006. december 20.) által meghatározott szabályok szerint tüntethetők fel az élelmiszerek és funkcionális élelmiszerek jelölésén (Internet 2). Az egészségre vonatkozó állítások jegyzékét a Bizottság 432/2012/EU rendelete (2012. május 16.) határozza meg, amely figyelembe veszi az élelmiszerekkel kapcsolatos betegségek kockázatát, a gyermekek fejlődését és egészségét (Internet 3). Az Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal és a felügyeleti szervek pedig laboratóriumi vizsgálattal ellenőrzik az állítások jogos tartalmát, hogy az adott élelmiszer valóban tartalmazza-e az állításban hivatkozott összetevőt ([www.nebih.gov.hu](http://www.nebih.gov.hu)).

Az élelmiszerek címkézésére, kiszerelésére és reklámozására vonatkozó tagállami jogszabályok közelítéséről szóló irányelve (2000/13/EK) alapján a gyártó nem ruházhat fel egy élelmiszert emberi betegségek megelőzésének, kezelésének vagy gyógyításának tulajdonságával (kivéve: speciális élelmezési célokra szánt természetes ásványvizek és élelmiszerek, amelyekre külön közösségi rendelkezések vonatkoznak) (Stanton et al., 2001).

### **3.2.3 Piac, elfogadottság, megítélés**

A magyar fogyasztók informáltságuk növekedése és értékrendszerük megváltozása miatt rendkívül fogékonyak a nemzetközi trendekre, ezért a funkcionális élelmiszerek magyar piacának vizsgálata előtt szükségeszerű a nemzetközi kitekintés (Nagy és Piskóti, 2007).

A funkcionális élelmiszerek piacának alakulását az elmúlt három évtized tekintetében megvizsgálva megállapítható, hogy a kétezres években Latin Amerika, Kelet-Ázsia és Kelet-Európa voltak a legdinamikusabb növekedést produkáló régiók, ahol a teljes piac mérete 2004-ben 4 milliárd USD nagyságú volt (Nagy és Piskóti, 2007). Megfigyelhető, hogy ebben az időszakban a funkcionális élelmiszerek iránti fogyasztók érdeklődése nagyobb volt a közép- és észak-európai országokban, mint a mediterrán országokban, mivel a mediterrán térségben élő emberek inkább a friss zöldségeket, gyümölcsöket részesítették előnyben a feldolgozott vagy részben feldolgozott, mesterségesen dúsított társaikkal szemben (Menrad, 2003).

Sloan már 2006-ban arra hívta fel a figyelmet, hogy az egészség és az arra gyakorolt hatás még az addigiaknál is meghatározóbb szerepet fog betölteni az élelmiszervásárlások során az elkövetkezendő években, mivel a fogyasztók egyre inkább a kényelmesebb, ízletesebb és hatékonyabb ételeket és italokat fogják keresni. A funkcionális ételek és italok globális piaca kb. 33 milliárd USD volt 2000-ben (Granato *et al.*, 2010). Az élelmiszeripar egészében ez a szegmens mutatta a legdinamikusabb fejlődést (Tripathi és Giri, 2014). Ezt alátámasztják a *Fortune Business Insight* adatai is, amely szerint a globális funkcionális élelmiszerek és italok piaca 258,8 milliárd USD volt 2020-ban. A hosszabb távú prognózisuk pedig a 2028-as évre már 529,66 milliárd USD-s piacmérettel kalkulál (Internet 4). Sloan 2006-ban a funkcionális élelmiszerek területén érvényesülő legfontosabb 10 trendet az alábbiak szerint foglalta össze:

1. Veszélyben a gyermekek:

A gyerekek egyre nagyobb mértékben vannak kitéve az elhízás, a magas vérnyomás és a 3 típusú cukorbetegség veszélyének. Egyre több gyermekek által fogyasztott élelmiszer megreformálása valósul meg, a cél a termékek tápanyagtartalmának növelése, a zsír-, kalória-, cukor- és sótartalom csökkentése, továbbá olyan élelmiszerek bevezetése a hétköznapi étkezésbe, mint a zsírszegény tejtermékek, szójatermékek, müzlik, zab, melyek ideálisak a gyermekek számára.

2. Alacsony kalóriatartalmú ételek:

A súly-tudatos fogyasztók előretörésével megnő az igény az alacsonyabb kalóriatartalmú ételek és italok iránt, melynek köszönhetően a light és kalóriacsökkentett élelmiszerek is nagyon népszerűvé váltak, a testsúly-tudatos fogyasztók egyre inkább választják ezeket az ételeket és italokat. A fogyasztók

figyelnek az elfogyasztott élelmiszer mennyiségére is és a napi többszöri, kis mennyiségű étkezéseket preferálják inkább. Egyre inkább elterjedt a boltokban a snackek 100 kalóriás csomagolásban történő árusítása, ami szintén a tudatos vásárlókat célzó marketing fogás.

3. Fitokemikáliák:

Minden negyedik fogyasztó azt állítja, hogy a betegségek megelőzése érdekében fogyaszt zöldségeket és gyümölcsöket. Az antioxidáns hatású termékek (acai bogyó, goji bogyó, chia mag) egyre inkább a hétköznapi élet részévé válnak.

4. Többszörös hozadék:

A funkcionális élelmiszereknek több problémára is szeretnének segítséget nyújtani, így például hatásosnak kell lenniük az elhízás ellen, meg kell tudni akadályozniuk a magas koleszterin szint kialakulását és védeni kell a szívbetegségek ellen.

5. Egészséges zsiradékok:

Az omega-3-zsírsavak egyre növekvő népszerűsége miatt a fogyasztók egyre inkább választanak egészséges olajokat és kerülik az egészségtelen zsiradékok, a telített és transzzsírsavak fogyasztását.

6. Az idősök is számítanak:

50 év felett egyre gyakoribbá válik az ízületi fájdalom, arthritis, osteoporosis, reflux betegség, emésztési és szemészeti problémák. A jóléti társadalmakban megfigyelhető az idősök arányának növekedése, és az öregkor kitolódása a populáción belül. Ők egyre nagyobb keresletet támasztanak a funkcionális élelmiszerek iránt egészségük megőrzése vagy javítása érdekében.

7. Glikémiás-index, glutén, magvak:

Az alacsony glikémiás indexű élelmiszereknek fontos szerepe van az elhízás, inzulin rezisztencia, diabetes, hangulatváltozások, koncentráció és a normál vércukor-szint kontrollálásában, ezért fogyasztásuk az egészséges táplálkozás fontos részévé vált. A teljes kiőrlésű magvak pozitív hatása egyre nagyobb körben válik ismertté és a belőlük készült termékek, péksütemények ma már egyre könnyebben elérhetővé, kedvelté válnak, és előtérbe került a gluténmentes élelmiszerek fogyasztása is.

8. Természetes megoldások:

Egyre több vásárló keresi azokat az élelmiszereket, amiknek a termesztésénél nem használtak gyomirtókat, permetszereket, az előállításnál nem használtak tartósítószerket, ételfestéket, és nitríteteket/nitrátokat. Ezek a vásárlók kerülnek a hormonnal vagy antibiotikummal kezelt állatok feldolgozásából származó húsok/húskészítmények vásárlását is.

9. Teljesítmény-növelés:

Sok fogyasztó a funkcionális élelmiszereket energiaszintjének feltöltésére és extra energiabeviteli forrásként használja, fontosnak tartják energiaszintjük növelését és a fáradtság elkerülését. A funkcionális élelmiszerekkel szeretnék fizikai és szellemi teljesítőképességüket növelni. Nagyon népszerűek a gyerekek körében a tanulást segítő, memóriát javító nassolnivalók, de a felnőttek is előnyben részesítik ezeket megterhelő szellemi munka esetén.

10. Kedvencek:

Nagy igény van a kedvenc ételeink egészségesebb formában való fogyasztására, így már manapság egyre több alternatívát lehet találni, például csökkentett zsír- vagy cukortartalmú ételekre, vitamintartalmú italokra, ilyenek a 100%-os narancslevet tartalmazó alkoholos italok vagy akár a kalóriaégető üdítők.

Sokáig a funkcionális élelmiszerek piacáról kevés információ állt a szakemberek rendelkezésére, ezért Nagy munkatársaival 2006 decemberében elvégzett a fogyasztói szokások feltárása érdekében egy országos, telefonos, kérdőíves megkérdezéses vizsgálatot. A mintanagyság 385 fő volt (megbízhatósági szint: 95%, konfidencia intervallum: 5%). A kutatási eredményük szerint Magyarországon az egészséges életmód szinte mindenki számára fontos volt. Leginkább a rák, a szív- és érrendszeri megbetegedések és a magas vérnyomás azok a betegségek, amelyektől tartottak a megkérdezettek és egészségmegőrzés érdekében fogyasztott élelmiszer listáját meggyőző fölényrel a gyümölcsök és a zöldségek vezették. Motivációikat tekintve leginkább azért vásárolnak funkcionális élelmiszereket, mert azok jótékony hatással vannak az egészségre, preventív jellegűek és javítják a közérzetet. A gátló tényezők vizsgálata során kiderült, hogy Magyarországon a magas ár, az informálatlanság és a nehéz beszerezhetőség a funkcionális élelmiszerek fogyasztásának



legfőbb akadályai. A fogyasztói felárelfogadás a funkcionális élelmiszerek esetében megfelelő. A legtöbben 10-20%-kal fizetnének többet a funkcionális élelmiszerekért, de sokan akár 20-50%-ot is. Vagyis ennyivel lehet a funkcionális élelmiszereket drágábban adni a hagyományos élelmiszerekénél.

Amikor valaki funkcionális élelmiszert vásárol a legértékesebb információforrások közé tartozik az orvos ajánlása, a család, barátok ajánlása és a termék címkéje is de a fogyasztói magatartást még két egymással is kapcsolatban álló tényező is befolyásolja. Ilyenek a demográfiai tényezők, mint nem, életkor, iskolázottság, lakóhely, másrésről pedig a kulturális-társadalmi tényezők, mint a családi háttér, az egyén környezetének normái és a társadalomban elfoglalt státusz. Az élelmiszereknél fontos tényező még a származási ország, a termék íze és külső megjelenése, vagyis a csomagolás. A piaci szegmensek meghatározása érdekében Nagyék klaszteranalízist is végeztek mely eredményül négy klasztert kaptak (egészségtudatos fiatalok, családanyák, bizalmatlanok és a managerek vagy aktív, felelős döntéshozók). Nemzetközi trendeket, orientációkat figyelembe véve, valamint a primer kutatásuk alapján az alábbi fő célcsoportok definiálható a funkcionális élelmiszerek piacán:

1. **„Tudatos fiatalok”**: Életkorukat tekintve 18-30 év közöttiek, akik felismerik a helytelen táplálkozás egészségi kockázatait, fontos számukra a divat, a stílus és a weboldalak, applikációk és egyéb kommunikációs eszközök használata, a tanulás, sport, szórakozás, és hatással vannak rájuk a reklámeszközök. Ezen fiatalok általában a kész termékeket és ezek kombinációit fogyasztják.
2. **„Családanyák”**: A piac legnagyobb szegmensét ők alkotják. Főként olyan háziasszonyok tartoznak ide, akik igyekeznek a család életmódját egészségesebb irányba terelni, és gyermekeiket a kezdetektől fogva az egészséges táplálkozásra szoktatni. Ide tartoznak még azok a nők, akik életmódjuk révén szeretnék elérni az egészséget, fiatalságot és szépséget. Elsősorban élelmi rostokban gazdag valamint a zsír-, illetve cukorhelyettesítőket tartalmazó élelmiszerek és italok fogyasztói, de fontos szempont náluk a gyorsaság és egyszerűség is.
3. **„Aktív felelős döntéshozók (menedzserek)”**: Ezen fogyasztói csoportba tartozó egyének folyamatos stressznek vannak kitéve, kevés szabadidővel rendelkeznek, és mindennapi munkájuk során sokszor kell felelős döntéseket hozniuk. Emellett az életvitel mellett a funkcionális élelmiszerekben látják a megoldást a teljesítmény

fokozására és a betegségek elkerülésére. Meglehetősen fontos számukra a teljesítmény fokozása. A gyorsaság nagyon fontos tényező az életükben, ezért ez a csoport inkább a készételeket és ezek kombinációit részesíti előnyben.

4. **Bizalmatlanok:** Általában nem hisznek az egészségre vonatkozó állításoknak és kételkednek az élelmiszeripar által közölt információkban. Az egyszerű, hagyományos élelmiszerekhez ragaszkodnak, kerülik a módosított, feldolgozott élelmiszereket. Az egészséges táplálkozás és az egészséges életmód számukra is fontos, de ezt inkább a természetes élelmiszerek fogyasztásával érik el, és elutasítják a kémiai adalékanyagokat és tartósítószeret tartalmazó élelmiszereket (Nagy és Piskóti, 2006).

### 3.3 Probiotikumok

A pre- és probiotikumok a táplálkozástudomány fejlődésével, az egészséges életmód előtérbe kerülésével jelentek meg a köztudatban és kapnak folyamatosan növekvő szerepet, létezésük azonban nem új keletű a tudomány számára.

A probiotikus tulajdonsággal rendelkező mikroorganizmusok fogyasztásával lehetőség nyílik a bélmikrobiota aktivitásának serkentésére, ezáltal az immunrendszer erősítésére, hiszen a probiotikumok kiemelt szerepet játszanak a normál bélflóra fenntartásában, a gyomor-bélrendszeri kórokozók elleni védelemben, az immunrendszer javításában, de akár a szérum koleszterin szint és a vérnyomás csökkentésében is. A terápiás céllal történő alkalmazásuk alatt pedig a következőket értjük: gyermekkori hasmenés, csontritkulás, élelmiszer allergia, atópiás betegségek megelőzése, antitest indukált hasmenés csökkentése, székrekedés, valamint hiperkoleszterolémia enyhítése, gyulladásos bélbetegségek szabályozása, védelem a vastagbél- és a húgyhólyagrak ellen (Tripathi és Giri, 2014).

Az emberek által fogyasztott probiotikus élelmiszerek főként *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* fajokat tartalmaznak, de a *Saccharomyces*, a *Lactococcus*, az *Enterococcus* nemzetségen belül is vannak probiotikus tulajdonsággal rendelkező fajok (Holzapfel és Schillinger, 2002).

Ahhoz, hogy egy mikroorganizmus megkapja a probiotikus státuszt, különböző kritériumnak kell megfelelnie. A kiválasztás kritériumai közé tartozik, hogy az adott törzs legyen képes a gyomor-bélrendszeren történő áthaladásra, beleértve a gyomorsav- és epetűrést, a megfelelő tapadási képességet a bél hámsejtjeihez, az emberi bélben történő kolonizációt, az antimikrobiális anyagok termelését és az emberre gyakorolt jótékony hatások közvetítését (Csapó et al., 2016). A probiotikumok bélnyálkahártyához való tapadása kulcsfontosságú a hatékonyságuk szempontjából. A tapadás révén a probiotikus baktériumok képesek olyan kölcsönhatásokat kialakítani a bélsejtekkel, amelyek elősegítik az immunrendszer szabályozását és a bélnyálkahártya védőgát funkciójának helyreállítását. A tapadás során kölcsönhatás alakul ki a nyálkahártya felszínével és a GALT rendszerrel való kölcsönhatás révén a probiotikumok képesek befolyásolni az immunsejtek aktivitását és segítenek az immunrendszer szabályozásában. Emellett a probiotikumok által termelt anyagok, például rövid láncú zsírsavak is hozzájárulhatnak a bélnyálkahártya egészségéhez és a gyulladás csökkentéséhez. A probiotikus baktériumok bejutása és megtapadása a bélnyálkahártyán a bélflóra diverzitásának növeléséhez vezethet, amely segít megelőzni a kórokozók elszaporodását és az immunrendszer szabályozásában is szerepet játszik (Servin és Coconnier, 2003). A patogén tulajdonságok hiánya alapvető fontosságú, mivel a probiotikus törzsek nem okozhatnak betegségeket, és nem lehetnek veszélyesek az emberek számára. A *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsek által okozott fertőzések nagyon ritkák, és jellemzően csak immundeficiens szervezetekben fordulnak elő. Ezek a törzsek általában jótékony hatásúak az emberi szervezet számára, és biztonságosan alkalmazhatók probiotikumként. A probiotikumok hatékonyságának és biztonságosságának megítélésekor fontos a tudományos kutatások alapján történő bizonyítékok figyelembevétele is. A klinikai vizsgálatok során az alkalmazott probiotikus törzsek hatékonysága és biztonságossága is alaposan vizsgálható, és ezek az eredmények hozzájárulnak a probiotikumok széles körű alkalmazásának megalapozásához (Borriello et al., 2003). Az immunrendszeri betegségekben (pl. HIV fertőzésben) szenvedő egyénnel végzett klinikai vizsgálatok során is bizonyították a probiotikumok biztonságát és hatékonyságát. Az ilyen betegeknek nem tapasztaltak negatív egészségügyi hatást, sőt a probiotikumok fogyasztásának pozitív hatásai között szerepelt a bélflóra normalizálódása, az immunrendszer támogatása és a gyulladásos folyamatok csökkentése (Ishibashi és Yamazaki, 2001).

A probiotikus mikroorganizmus kiválasztásakor biztonsági, funkcionális és technológiai szempontokat kell figyelembe venni (Saarela et al., 2000). A technológiai szempontokként megfogalmazott elvárások elsősorban a gyártók számára kívánatos tulajdonságokat

összegzik, ilyen például a megfelelő szaporodóképesség az adott tápközegben, a fogyasztói igényeket kielégítő érzékszervi tulajdonságok, az életképesség megőrzése mind a gyártási, mind a tárolási folyamat során, az emberi béltraktusban való túlélés, valamint a genetikai stabilitás az élelmiszer-feldolgozás körülményei között (Grajek et al., 2005). A baktérium túlélőképessége a különféle káros tényezőkkel szemben a feldolgozás és a termékfejlesztés során faj- és törzs specifikus. A probiotikus mikroorganizmusok közül a *Lactobacillus*-ok általában ellenállóbbak, mint a *Bifidobacterium*-ok. A hagyományos fermentált élelmiszerekben természetes módon megtalálható *Lactobacillus*-ok jobban ellenállnak az alacsony pH-nak, és adaptálhatók tejbe és más élelmiszer mátrixokba, ezért technológiailag alkalmasabbak élelmiszeripari célokra, mint a *Bifidobacterium*-ok (Tripathi és Giri, 2014). A probiotikus élelmiszerek fejlesztésénél követelmény a megfelelő dózisu probiotikus törzs kiválasztása, a Magyar Élelmiszerkönyv előírása szerint legalább  $10^7$  (tke/ml) probiotikumnak kell jelen lenni a termékben ahhoz, hogy kifejtsék pozitív hatásait. A szavatosság alatti életképesség és stabilitás megőrzése érdekében ajánlatos, hogy minél nagyobb számban legyenek jelen az élő sejtek a termékben (Nagy et al., 2008).

A *Lactobacillus* törzsek nagyon fontosak az élelmiszeriparban, mivel segítségükkel számos élelmiszer előállítható, például joghurt, kefir vagy más erjesztett ételek. Ezek az ételek gazdagok lehetnek probiotikumokban, melyek előnyösek az emésztőrendszer egészségére és a gyulladásos betegségek megelőzésére, így előszeretett tanulmányozza őket az élelmiszeripar (Vasudha és Mishra, 2013).

A vastagbél mikrobiom legnagyobb részét a *Bifidobacterium*-ok alkotják, mely újszülöttek esetén akár a 95%-ot is elérheti addig egészséges felnőtteknél már csak 25%-ra tehető az arányuk. Részt vesznek a rövid szénlácú zsírsavak előállításában, mint például az acetát, a propionát és a butirát. De ezek mellett egyéb gázok képzésben is szerepe van, ilyen a  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2$  és metán (Ruan et al. 2020).

A helytelen táplálkozás, különösen az alacsony rost- és magas zsír- valamint cukortartalmú étrend, hozzájárulhat a vastagbélproblémák kialakulásához, mint például a székrekedés, a vastagbélgyulladás és a vastagbélrák. Azonban a jótékony hatású probiotikumok ígéretes megoldást jelenthetnek ezeknek a betegségeknek a megelőzésére vagy kezelésére (Saarela et al., 2002). A probiotikus élelmiszerek kedvező élettanihatását klinikai vizsgálatok is alátámasztják, mely szerint azok fenntartják vagy javítják a belek kedvező mikrobiális egyensúlyát (Fuller, 1989).

Fontos megemlíteni a metabolikus aktivitásukat is, mely számos jótékony hatást gyakorolhat az emberi szervezetre. A *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsek is képesek

az emésztőrendszerben található magas kalóriatartalmú cukrokat alacsonyabb kalóriatartalmú vegyületekké alakítani. De vannak olyan probiotikus baktériumok is, amelyek a lipideket és a koleszterint bontják, így csökkenthetik a vér koleszterinszintjét és a szívbetegségek kockázatát. Fontos megjegyezni azt is, hogy az egyes törzseknek eltérő metabolikus aktivitásúak lehetnek, és a pontos hatások függnak a fogyasztott baktériumok típusától és mennyiségétől is (Sybesma és Hugenholtz, 2004).

### 3.3.1 A probiotikumok jótékony hatásai

Plinius már i.e 76-ban a hasmenés ellen fermentált/aludttej fogyasztását javasolta. A hasmenést számos dolog okozhatja, például étel intolerancia, gyulladásos bélbetegség, vírusos eredetű fertőzés vagy akár antibiotikumos kezelést követően is jelentkezhet.

Kutatások szerint a probiotikumok fogyasztása segíthet csökkenteni a rotavírus okozta hasmenés gyakoriságát. Bebizonyosodott például, hogy a *Bifidobacterium bifidum* vagy a *Streptococcus thermophilus*, segíthetnek lerövidíteni a rotavírus okozta hasmenés időtartamát, illetve csökkenteni a hasmenéshez társuló tünetek súlyosságát. A *Bifidobacterium lactis* Bb-12 esetében pedig átlagosan egy nappal rövidebb volt a hasmenés időtartama a kezelt egyéneknél (Saavedra et al., 1994). A másik gyakran előforduló hasmenés típus az utazók körében jelentkezi. Tanulmányok szerint ezeknek a gyakoriság 15-56% közé tehető (DuPont, 1993). Okasanen a munkatársaival (1990) a finn utazók körében vizsgálatot végzett, melyben a csoport egyik felének placebót a másik felének pedig *Lactobacillus GG*-t adtak. Arra kérték őket, hogy naponta egyszer, két nappal az indulás előtt és az egész út során fogyasszák a kapott adagokat, mely  $10^9$  tke/nap mennyiségű probiotikus baktériumot jelentett. A *Lactobacillus GG*-vel kezelt egyéneknél jóval alacsonyabb volt a hasmenés előfordulása így az megfelelően hatásosnak bizonyult (Okasanen et al, 1990). Ezenkívül számos további publikációban kifejtették még a *Lb. acidophilus* törzsek hasmenés megelőzésében betöltött szerepét is (Salmien et al., 1998).

A világ felnőtt lakosságának kb 70-75%-a szenved laktóz intoleranciában, mely főleg Ázsia és Afrika lakóit érinti, Európában kb 5-10%-ra tehető az érintettek aránya. A probléma oka a tejtermékekben megtalálható laktóz lebontásának a képtelenségére vezethető vissza, amelynek oka a cukormolekula lebontásáért felelős laktáz enzim hiánya vagy annak elégtelen működése. Ha nem sikerült a laktózt glükózzá és galaktózzá bontani az nem képes a bélfalon keresztül a vérkeringésbe jutni, hanem a belekben marad. Ezt a belekben maradó cukrot a baktériumok elkezdik megemészteni melynek hatására intenzív gáztermelés indul el. A baktériumok az emésztés során tejsavat, metánt és hidrogént termelnek, melyhez egyéb

kellemetlen alhasi kórtűnet is párosulhat, mint a gyomorgörcs, puffadás, felfúvódás vagy hasmenés (Misselwitz et al, 2013). A tünetek erőssége arányos az elfogyasztott laktóz mennyiségével. Az ismétlődő hasmenések hatására más tápanyagok felszívódása is csökkenhet, a vitaminok, ásványi anyagok, nyomelemek is nehezebben szívódnak fel, valamint az immunrendszer legyengülése miatt a fertőzések is gyakoribbá válhatnak (Tuohy et al., 2003).

Egy érdekes eredmény, azt mutatja, hogy a probiotikus baktériumok jelenléte a joghurtban hozzájárulhat a laktóz tolerancia javításához. A  $\beta$ -D-galaktozidáz enzim szükséges a laktóz lebontásához, és a probiotikus baktériumok jelenléte növelheti ennek a folyamatnak a hatékonyságát a belekben. Emellett a bélmikrobióta összetételének megváltozása is hozzájárulhat a laktóz tolerancia javulásához, a tranzit idő csökkenésével a laktóz kevesebb időt tölt a bélrendszerben, s ezáltal kevesebb lehetősége van irritálni a bélrendszert. Az ilyen és ehhez hasonló eredmények fontosak lehetnek azok számára, akik laktóz intoleranciával küzdenek hiszen egyes probiotikus élelmiszerek segíthetnek enyhíteni a tüneteket (Marteau et al., 1990). Jiang és munkatársai vizsgálata (1996) kimutatta, hogy a *Bifidobacterium longum* törzs fogyasztása szintén enyhítheti a laktóz intoleranciát. A vizsgálatban részt vevő egyéneknél jelentős mértékben javult a laktáz enzim aktivitása, valamint a laktóz emésztésére fordított idő, miután 14 napig fogyasztottak *B. longum*-ot tartalmazó joghurtot. A kutatók arra a következtetésre jutottak, hogy a probiotikumok hozzájárulhatnak a laktóz intolerancia tüneteinek enyhítéséhez a bélmikrobióta módosítása révén.

A probiotikus tulajdonsággal rendelkező baktériumok jelentős szerepet játszanak az immunrendszer működésében is. A megfelelő bélflóra biztosítja a bélnyálkahártya permeabilitásának épségét, és segíti a szervezet számára szükséges tápanyagok felszívódását; közvetlenül vagy speciális fehérjék termelésével pedig gátolja az idegen baktériumok megtelepedését és védi a bélnyálkahártya sejtjeinek épségét is (Karlsson et al., 2013). A gasztrointesztinális nyálkahártya a szervezet legnagyobb immunszerve (mucosa-associated lymphoid tissue –MALT), melyet együttműködő mechanizmusok komplex hálózata alkot, benne citokinek, antitestek és lymphocyták. Az ember celluláris immunrendszerének mintegy 80%-a itt található, éppen ezért a bél korai kolonizációja fontos szerepet játszik ennek érésében is, hiszen szekretoros IgA-t termel, befolyásolva ezzel a fagocita aktivitást és az antigén prezentáció folyamatát (Wacha, 2011). A jótékony bélbaktériumok energiaszükségletünk kb. 10%-át biztosítják olyan metabolitok termelésével (arginin, glutamin, rövid láncú zsírsavak), melyeket a bélhámsejtek fő energiaforrásként használnak. Közreműködnek az elfogyasztott, emészthetetlen poliszacharidok lebontásában,

szervetlen anyagok felszívódásában (kalcium, magnézium, vas) és számos, a szervezet számára nélkülözhetetlen vitamint (tiamin, folsav, K-vitamin, piridoxin) termelnek (Colombel et al., 1987). A probiotikumok, különösen a tejsavbaktériumok fogyasztása elősegítheti a szervezet immunrendszerének erősödését és védelmét a fertőzések és rákkeltő hatások ellen (Isolauri et al., 2001).

### 3.3.2 Túlélőképesség vizsgálat élelmiszerekben tárolás során

A Magyar Élelmiszerkönyv előírja, hogy a probiotikus termékeknek  $10^7$  életképes baktériumot kell tartalmazniuk grammonként a minőségmegőrzési idő végéig és emellett elengedhetetlen feltétel a genetikai stabilitás az élelmiszer-feldolgozás során, illetve, hogy megmaradjanak azon funkcionális tulajdonságok, amelyek fontosak a kívánt egészségi hatás kiváltása érdekében (Grajek et al., 2005). Továbbá a probiotikumok nem befolyásolhatják a termék ízét, aromáját, valamint annak savasságát sem növelheti meg a fogyaszthatósági idő alatt (Heller, 2001).

Sajnos azonban nem tudjuk figyelmen kívül hagyni azt a tényt, hogy a probiotikumok érzékenyek olyan környezeti paraméterekre, mint a pH, a fény, a vízaktivitás vagy az oxigén (Teixeira et al., 1995), melyet tovább befolyásol még a törzs fiziológiai állapota, a termék kémiai összetétele, amelybe a probiotikumot tesszük, valamint a törzs kölcsönhatása más starter kultúrákkal vagy egyéb mikroorganizmusokkal (Heller, 2001). Különböző vizsgálatokkal sikerült igazolni azt is, hogy a tápanyagtartalom (szénhidrátok, rostok és fehérjék) és az antimikrobiális vegyületek jelenléte fontos hatással van a probiotikum életképességére. Az élelmiszer kémiai összetétele tehát kiemelkedő jelentőségű a mikroorganizmus megfelelő, zavartalan anyagcsere tevékenysége szempontjából hiszen intenzív kapcsolatban állnak a környezetükkel azáltal, hogy felvesznek onnan számukra fontos tápanyagokat, valamint anyagcsere termékeket választanak ki (Shori, 2016). A probiotikumok fiziológiai állapota is fontos mind a szaporodóképesség, mind a fermentáció során jelentkező hatásokkal szembeni ellenállóképesség szempontjából. Néhány vizsgálat kimutatta, hogy a logaritmikus fázisból származó baktériumok sokkal érzékenyebbek a környezeti stresszhatásokra, mint a stacioner fázisból származók (Heller, 2001).

A gyümölcsmátrix pH-ja az egyik legfontosabb tényező, amely befolyásolja a probiotikumok túlélését. Modler (1994) kísérleteiből kiderült, hogy kis pH-jú joghurtban (pH=3,9-4,0) a *Bifidobacterium* populáció sejtkoncentrációja kevesebb mint egy hét alatt  $10^9$  tke/ml értékről képes volt nullára csökkenni. A gyümölcslevek is nagy mennyiségű szerves savat tartalmaznak, és az alacsony pH növeli a nem disszociált forma

koncentrációját, így a gyümölcslevekben feltételezhetjük a savas körülmények és a savak belső antimikrobiális hatásának együttes hatását. A *Lactobacillus*-ok általában rezisztensek és túlélnek olyan levekben, amelyek pH-ja 3,7 és 4,3 között van, de a bifidobaktériumok kevésbé toleránsak a savra, és a 4,6 körüli pH esetében már jelentősen csökken a túlélésük (Tripathi, 2014). A probiotikus kultúráként alkalmazott törzsek előzetes vizsgálata, sav- és epetűrés tesztekkel, hasznos információval szolgálhat az emésztőrendszeren való áthaladás közben várható pusztulás előrejelzésére (Ross et al., 2005). Nuallkaekul (2001) munkatársaival a *B. longum* túlélését befolyásoló tényezőket vizsgálta különböző gyümölcslevekben (narancs, grapefruit, feketeribizli, ananász, gránátalma és eper), mely során azt tapasztalta, hogy hat hét 4°C-on történő tárolás jelentős különbségeket mutat savtűréskéesség tekintetében. A vizsgált törzsek mindegyike hosszabb ideig él túl narancs- és ananászlében, mint az áfonyalében. A grapefruitban az alacsony pH (pH 3,21) és a magas citromsavkoncentráció (15,3 g/L) ellenére csak 0,5 log tke/ml élt túl. Másrészt a gránátalmában a probiotikumok már egy hét eltelte után a kimutatási határérték alatt voltak, eperlé esetében ehhez négy hétnek kellett eltelnie. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a túlélés bizonyos paraméterek szinergikus és antagonista hatásának eredménye, és a fenolos vegyületek jelentős szerepet játszhatnak. Ha a pH káros hatást fejt ki, a fehérje és az élelmi rost megvédheti a sejteket a savas stressztől míg a fenolok erős életképesség-csökkenést okozhatnak (Nuallkaekul et al., 2001). Nuallkaekul munkatársaival 2011-ben a *Lp. plantarum* törzsekre vonatkozóan is újra elvégezte a kísérletet. Nagyon jó sejttúlélést (kevesebb, mint 0,4 log csökkenést) figyeltek meg 6 hét narancs-, feketeribizli- és ananászlében történő tárolás után, ezen gyümölcslevek mindegyikének pH-ja körülbelül 3,8 volt. Az áfonyában és a gránátalmában azonban nagyon gyorsan csökkent a sejtek túlélése, míg a citromlé esetében a sejtkoncentráció körülbelül 1,1 log al csökkent 6 hét tárolás után. A vizsgálat végére arra a következtetésre jutottak, hogy a tárolás során fehérjék és élelmi rostok védik a sejteket. A gránátalmában viszont a sejtek túlélése a vártnál jóval alacsonyabb volt ennek oka feltételezhetőleg az antimikrobiális vegyületek, például a fenolos vegyületek jelenléte lehet (Nuallkaekul et al., 2011).

A pH stressz mellett a másik jelentős stresszhatás az oxigén stressz, hiszen az oxigén képes könnyen beoldódni az élelmiszer mátrixba ezzel befolyásolva (főleg az anaerob) mikroorganizmusok életképességét (Shah, 2000). Általánosságban azonban elmondható, hogy a *Bifidobacterium*-ok érzékenyebbek az oxigén jelenlétére, mint a *Lactobacillus*-ok (Tripathi és Giri, 2014).



### 3.3.3 A probiotikumok életképességének javítási lehetőségei

A közelmúltban robbanásszerűen megnőtt a probiotikus élelmiszerek piaca, de emellett számos kutatásból kiderült, hogy ezekben a termékekben a probiotikus baktériumok túlélése meglehetősen gyenge, így baktérium sejtek fizikai gáttal való ellátása a kedvezőtlen környezeti feltételekkel szemben megoldást jelenthet ezen problémára (Kailasapathy, 2002). A megfelelő hasznosulás érdekében az elfogyasztást követően a probiotikumoknak túl kell élniük az emberi gyomor-bélrendszerben uralkodó enzimatikus és pH viszonyokat ahhoz, hogy a vastagbélben felszabadulva kifejthessék az egészségre gyakorolt pozitív hatásukat. Nem elhanyagolható szempont az sem, hogy fontos az életképességének, metabolikus aktivitásuknak biztosítása a tárolásuk ideje alatt is, hiszen alapesetben még kitűnő tárolási körülmények között is 1 log/év sejtszámcsökkenéssel kell számolni a liofilezett kultúrák esetében, ami évi 90%-os veszteséget jelent (Zuidam és Nedovic, 2010). Egyik ilyen megoldást lehet a csomagon belüli oxigénszénszint szabályozása. A probléma abból fakad, hogy az oxigén oxidatív károsodást idéz elő reaktív oxigénfajták (ROS) például  $H_2O_2$  vagy szuperoxid ionok képződésével. Ha az oxigénszintet a lehető legalacsonyabbra szorítjuk, megakadályozhatjuk a probiotikumok pusztulását. Több kutató is javasolta a termék légkörének módosítását is annak  $CO_2$ -tartalmával történő megnövelése révén. Corbo is megerősítette munkatársaival (2014), hogy a probiotikus gyümölcslevek légkörének módosítása szén-dioxid tartalmuk növelése révén segíthet fenntartani a baktériumok életképességét azáltal, hogy csökkenti a gyümölcslé pH-ját, így savasabb környezetet teremt, amely kedvezőbb a probiotikumok túléléséhez. Fontos azonban megjegyezni, hogy a gyümölcslé szén-dioxid tartalmának növelése befolyásolhatja a gyümölcslé érzékszervi tulajdonságait, például az ízt és aromáját is (Corbo et al., 2014).

#### 3.3.3.1 Dúsítás prebiotikumokkal

A Gibson és Roberfroid (1995) által kidolgozott prebiotikum definíciója még mindig alapvetően használatos az élelmiszeriparban és a tudományos kutatásokban. Ennek megfelelően, a prebiotikumok olyan nem emészthető élelmiszer-összetevők, amely elősegíti a bél mikrobióta kedvező összetételének kialakulását, valamint a probiotikus baktériumok szaporodását és aktivitását. A prebiotikumok a bélrendszerben elérhetővé tesznek olyan ásványi anyagokat, mint például a kalcium, a magnézium és a vas, valamint csökkenthetik az LDL koleszterin szintet, amely hozzájárulhat a szív- és érrendszeri betegségek kockázatának csökkentéséhez. A prebiotikumokkal dúsított ételek hosszabb ideig tartó

teltségérzetet biztosítanak, ami segíthet a súlykontrollban és a folyamatos nassolás elkerülésében (Tymczyszyn et al., 2014).

A prebiotikumok közé tartozó vegyületek esetében elengedhetetlen feltétel, hogy az alábbi kritériumokat maradéktalanul teljesítsék:

- Intakt formában kell a vastagbélbe jusszon, ezért ellenállónak kell lennie a gyomorban lévő savaknak, epesóknak és egyéb hidrolizáló enzimeknek a bélben.
- Nem szabad sem felszívódnia, sem hidrolizálnia a felső gyomor és bél traktusban. A vastagbélben élő hasznos baktériumflóra szaporodását segítse, de a patogén mikroorganizmusok számát ne növelje.
- Könnyen fermentálhatónak kell lennie a jótékony bélmikrobióta számára.
- Ellen kell állnia azoknak a technológiai körülményeknek, amelyeknek a hordozó élelmiszer ki van téve (Tymczyszyn et al., 2014).

A prebiotikumokat több féle képpen is csoportosíthatjuk, például a felépítő cukor monomerek, vagy az építő egységek száma szerint, a kémiai kötések, illetve a polimer térbeli szerkezete (lineáris, elágazó) alapján, esetleg egyéb molekulákkal való kapcsolatuk szerint. Míg az inulin lineáris, addig a frukto-oligoszacharidok az elágazó poliszacharidok közé tartoznak. Az előbbihez csak fruktóz, az utóbbiakhoz pedig glükóz és fruktóz egységek kapcsolódnak (Trowel és Burkitt, 1986). A prebiotikumok tehát általában nem emészthető oligoszacharidok (NDO, non digestible oligosaccharide), közülük sorolhatjuk a galakto- és frukto-oligoszacharidokat, melyeket monomerjeikre hidrolizálva a probiotikus baktériumok számára tápanyagforrást biztosítanak (Kolida et al., 2002). Vannak olyan élelmiszerek, amelyek természetesen módon tartalmaznak prebiotikus anyagokat, például a szójabab, a csicsóka, a nyers zab, vagy az anyatej. Azonban a prebiotikumokat nemcsak az élelmiszerekben találhatjuk meg, hanem különféle étrend-kiegészítőkben és gyógyászati termékekben is, de bifidogén faktoroknak csak azokat a prebiotikumokat tekinthetjük, amelyek átjutnak az emésztőrendszeren és a vastagbélben a bifidobaktériumok energiaforrásként tudják felhasználni őket (Gibson et al, 1994).

A prebiotikumok mellett, hogy szelektíven támogatják a probiotikumok szaporodását, bizonyítottan védelmet is nyújtanak számukra, például a GOS-ok (galakto-oligoszacharidok) krioprotektánsként hatnak a baktériumokra fagyasztva szárításánál (Tymczyszyn et al, 2014). A probiotikum stabilitásának fokozása egyszerűen

megvalósítható a gyümölcsle prebiotikumokkal történő kiegészítésével. Rakin és munkatársai (2007) a cékla és sárgarépa leveket sörlesztő autolizátummal dúsították a *Lb. acidophilus*-sal végzett tejsavas fermentálást megelőzően. Az autolizátum hozzáadásával fokozódott a probiotikumok növekedése, csökkent a fermentációs idő, viszont tápanyag összetétel szempontjából azt a különbséget figyelte meg, hogy a sörlesztő-autolizátummal fermentált sárgarépa lé egyes ásványi anyag (Ca, P, Fe) és  $\beta$ -karotin tartalma magasabb volt, mint a sörlesztő-autolizátummal készült céklalé esetében. A sárgarépa lé magasabb ásványianyag tartalma jobban befolyásolta a tejsavtermelését. A sörlesztő-autolizátummal erjesztett céklalé viszont magasabb betanin és C-vitamin tartalommal rendelkezett, ami összhangban volt ezen összetevők nyers céklában lévő tartalmával (Rakin et al, 2007). Más kutatók glükánokkal dúsították a gyümölcsleveket, Saarela (2006) arról számolt be, hogy a 20%  $\beta$ -glükánt tartalmazó zabliszt hozzáadásával javult a mikroorganizmusok túlélése 4-20°C között a szacharózzal, búza dextrinnel és polidextrózzal kezelt termékekhez képest. Azonban a fagyasztva szárított sejteknél a zabliszt védő hatása nem volt tapasztalható (Saarela et al, 2006).

### 3.3.3.2 Mikro kapszulázás

A technológia, amely a probiotikus baktériumsejtek mikrokapszulázására szolgál, az immobilizált sejtenyészési technológia fejlesztéséből alakult ki, és széles körben alkalmazzák a biotechnológiai iparban (Kailaspathy, 2002).

A mikrokapszulázás valóban a mikroskálán történő kapszulázást jelenti, ahol a kapszulák mérete általában 1 és 1000 mikrométer között van. Ez a méret-tartomány biztosítja, hogy a kapszulák megfelelően kis méretűek legyenek ahhoz, hogy könnyen bejussanak a kívánt helyre a szervezetben, ugyanakkor nagyobbak, mint a nanoméretű kapszulák, így könnyebben kezelhetők (Passos és Riberio, 2009). Az egyik leggyakrabban alkalmazott technika a probiotikus baktériumok mikrokapszulázására a kalcium-alginát gélbe zárás módszere. Az eljárás során először a probiotikus baktériumokat alginátba ágyazva mikrokapszulázzák, majd kalcium-klorid oldatba merítik őket, hogy a kalciumionok az algináttal reakcióba lépve bevonják a baktériumokat, stabilizálják a benne található probiotikus mikroorganizmusokat, így azok jobban ellenállnak a környezeti hatásoknak, például a magas pH-nak és az emésztőenzimeknek. A kalcium-alginát mikrokapszulák alkalmazása lehetővé teszi a probiotikus baktériumok hatékonyabb védelmét és hosszabb ideig történő életben maradását, ezáltal növelve a probiotikus hatásukat. Gyakran alkalmazott eljárás még a porlasztással szárítás, extrudálás, emulzió és

fázisszétválasztás is. A kiválasztott eljárás azonban nagyban függ a probiotikus baktériumok típusától, a kívánt kapszulamérettől és az alkalmazás céljától is (Kailasapathy, 2002). A mikrokapszulázás előnyeit számos tanulmányban vizsgálták. Ding és Shah (2008) arról számoltak be, hogy a mikrokapszulázás által kialakult anaerob környezet előnyt jelenthet a probiotikus baktériumok túlélésének szempontjából, mert amellett, hogy segít a baktériumoknak átvészelni a durva emésztőrendszeri környezetet, a gyümölcslevek savas kémhatásával szemben is védelmet nyújt, így segítve a baktériumokat eljutni a bélrendszerbe, ahol elkezdhet kolonizálni. Kísérleteik során narancs és almalében vizsgálták a baktériumok túlélését, s megállapították, hogy a 6 hetes hűtőtárolás alatt a kapszulázott probiotikumok  $10^5$  tke/g sejtszámmal éltek túl, míg a kapszulázatlan társaik 5 héten belül elvesztették életképességüket. A vizsgálata szerint tehát a mikrokapszulázás javította a probiotikus baktériumok túlélését a tárolás során, valamint megakadályozta a baktériumok oxidatív károsodását (Ding és Shah, 2008). Sun és munkatársai (2023) arról is beszámoltak, hogy a mag:fal arány is hatással van a mikroorganizmusok túlélésére, szaporodásra. Kísérleteik során mikrokapszulázott *Lp. plantarum* 299v életképességét vizsgálták különböző beállítások mellett erjesztett és dúsított almalében 4 °C-on 11 hétig és 25°C-on 8 hétig történő tárolás során. A sejtszámot a felhasznált falanyagok aránya, összetétele, a tárolási hőmérséklet és az idő is befolyásolta. A 1:1,5 mag-fal aránnyal bevont minták életképessége szignifikánsan magasabb volt, mint az 1:1 mag-fal arányú mintáké. Ezenkívül a probiotikumok életképessége a 4 °C-on tárolt, 1:1 mag-fal arányú maltodextrin, valamint 1:1 mag-fal maltodextrin:rezisztens keményítő arányú bevonattal kapszulázott probiotikummal dúsított levekben magasabb volt, mint a rezisztens keményítőbevonatúaké (Sun et al., 2023).

#### 3.3.3.3 Fagyasztva szárítás

A fagyasztva szárítás, más néven liofilizálás egy olyan szárítási folyamat, amelyben az oldószert és a szuszpenziós közeget is lefagyasztják, majd vákuumot idéznek elő, így szakítják ki a vízmolekulákat a jégkristályból és a szilárd fázisból közvetlenül gázfázisba szublimálják (Grati és McClements, 2012).

Ez az eljárás a baktériumkészítmények előállításának egy klasszikus módja (Heckly, 1985). Azonban olyan nem kívánatos mellékhatásokat hordozhat magában, mint az érzékeny fehérjék denaturációja vagy számos sejttypus csökkent életképessége (Leslie et al., 1995). A probiotikumok túlélési képességét azonban nagyban befolyásolja a mikroorganizmusok kezdeti koncentrációja (Costa et al., 2014), a növekedési körülmények (Palmfeldt és Hahn-

Hagerdal, 2000) a rehidratáció körülményei és maga a tápközeg is (Teixeira et al., 1995). A legtöbb esetben az életképesség elvesztése a DNS-ben és a sejtfalban történő sejtkárosodás következménye (Teixeira et al., 1995). Ez nagyban összefügg a sejt méretével, az *Enterococcus*-ok, amelyek kis, gömb alakú sejtek, jobban ellenállnak a fagyasztásnak és a fagyasztva szárításnak, mint a *Lactobacillus*-ok. Az sejtmembránok sérülése fagyasztáskor extracelluláris jégkristály-képződés miatt következik be, és minél nagyobb a sejt felülete, annál nagyobb a membránok károsodásának kockázat (Fonseca et al., 2017). A probiotikus aktivitás megtartásához a krioprotektánsok hozzáadása is további megoldást jelenthet (Grati és McClements, 2012). Ilyen anyag lehet például a glicerín, a vérsérum, a sérum albumin, a soványtej, a pepton, az élesztőkivonat, a szacharóz, a glükóz, a metanol, a polivinil-pirrolidon (PVP) és dimetil-szulfoxid is (Hubálek, 2003). A liofilizált probiotikumok általánosságban stabilak a tárolás során, de jobb azokat alacsony hőmérsékleten és inert légkörben tárolni, a hidratálás tekintetében pedig javasolt a liofilizálást megelőző térfogatra visszahidratálni. A számtalan előnye mellett a fő hátránya a magas költsége, mely körülbelül ötszöröse a porlasztva szárításának. További gyenge pontja a technológiának, hogy a fagyasztva szárított probiotikumok általában stabilnak tekinthetők a tárolás során, de korlátozott védelmet nyújtanak a gyomor-bél traktusban, mely a különféle kapszulázási technológiák kombinálásával azonban orvosolható (Zuidam és Nedovic, 2010).

### **3.4 Nem tej alapú probiotikus italok**

#### **3.4.1 Alkalmazásának előnyei**

A tejsavasan erjesztett élelmiszerek a mai napig a legnagyobb mennyiségben és a legszélesebb választékban készült fermentált élelmiszerek, így tejfehérje allergia, laktózintolerancia, vegetarianizmus, illetve a vegán életmód egyre szélesebb körű elterjedése akadályt képez a tej alapú probiotikumok fogyasztásában. Ezen okból kifolyólag egyre növekvő fogyasztói kereslet tapasztalható a nem tej alapú probiotikus termékek piacán (Granato et al., 2010). Az alternatív probiotikus termékek jelentősége azért is nő, mivel azok alacsonyabb koleszterintartalommal bírnak így a különféle diétákba is könnyedén beilleszthetők (Vasudha és Mishra, 2013). A nem tej alapú probiotikus élelmiszerek előállítására, hatalmas előny jelent azoknak a fogyasztóknak, akik a fent említett intoleranciával élnek együtt. A módszer azonban nem teljesen újkeletű, hiszen Afrikában és Ázsiában már régóta hagyománya van a cereáliák felhasználásával készült tejsavasan

fermentált élelmiszereknek, például a pozolnak vagy busharának (Blandino et al., 2003). A boza a balkáni régió hagyományos itala, mely tejsavbaktériumokkal (*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* és *Leuconostoc* nemzetségek) és élesztőkkel fermentált gabonafélékből készül (Hancioglu és Karapinar, 1997.) A gabonafélék, mellett a hüvelyesek, gyümölcsök és zöldségek is potenciális szubsztrátumként szolgálhatnak a probiotikus termékek előállításánál során (Vasudha és Mishra, 2013). A gyümölcslevek szinte minden korosztály számára kedvelt terméknek számítanak, melyben egyaránt megtalálhatók az ásványi anyagok, a vízoldható vitaminok (pl. C-vitamin és B-vitamin), élelmi rostok és az antioxidánsok. A fogyasztók pedig frissítőnek és egészségesnek tartják (Tuorila és Cardello, 2002). Az összetett tápanyag tartalma nemcsak az emberek számára előnyös, hanem a mikroorganizmusoknak is képes megfelelő tápközeget biztosítani, de nem tartalmaznak starter kultúrát, amelyek a probiotikumokkal versengenek a tápanyagért. A gyümölcsleveket továbbá gyakran kiegészítik olyan anyagokkal, amelyek elősegítik az anaerob környezet megteremtését azáltal, hogy oxigént kötnek meg, ilyen anyag az aszkorbinsav is (Pimentel et al., 2014).

### 3.4.2 Felhasznált gyümölcsök jellemzői

#### **Alma (*Malus domestica*)**

„Napi egy alma az orvost távol tartja” szól a régi mondás, melyet számos kutatás és tanulmány is megerősít.

Az alma a mérsékelt égöv legjelentősebb gyümölcsfajtája, a világon pedig a banán után a második legnagyobb mennyiségben termesztett gyümölcs. Beltartalmi értékei alapján a rendkívül értékes fajok közé tartozik, így a fogyasztásban is kiemelkedő szerepe van. Ásványi anyagok közül a kalcium, nikkel, mangán, vitaminok közül pedig az E-, B<sub>2</sub>-, B<sub>6</sub>-vitamin és folsav tartalma jelentős. Rendkívül jelentős flavonoid forrásnak tekinthető, hiszen az Egyesült Államokban a gyümölcsökből elfogyasztott fenolok 22%-a az almából származik (Vinson et al, 2001). Knekt munkatársaival 2002-ben a flavonoidok mortalitással való összefüggését vizsgálta. A kísérlet alapján a flavonoidok bevitelére bizonyítottan alacsonyabb összhalálozást eredményezett, a beviteli forrás nagy része pedig ez esetben is az almából származott (Knekt et al, 2002). Az almát fogyasztó nőknél a szív- és érrendszeri betegségek kockázata is 13-22%-kal csökkent (Knekt et al, 1996). A héjban található kvercetinről pedig azt találták, hogy erős antioxidáns hatással bír és nagymértékben gátolhatja a májrák és a vastagbélráksejtek növekedését (Wolfe et al., 2003), de nemcsak a

szívbetegségek, a rák és az asztma kockázatát csökkenti, hanem összefüggésbe hozható a cukorbetegség alacsonyabb kockázatával is (Knekt et al,2002).

### **Meggy (*Cerasus vulgaris*)**

A meggy igazi hungarikum gyümölcsünk, a versenytárs országok között hazai fajtáinkkal vívtunk ki nemzetközi elismerést. A gyümölcséből készített termékek antioxidáns és antocianin tartalma lényegesen magasabb, mint a külföldi fajtákból készült termékeké, így azok áru-, és táplálkozásbiológiai értéke lényegesen nagyobb (Csihon, 2022). Különösen érdekes, hogy az orvos Entz Ferenc a következőképpen írt róla: „Ha van gyümölcsfa, mely Magyarországon a hatóságok figyelmét megérdemelné, az Ostheimi meggyfa az, miután gyümölcse nemcsak az egészséges étszerek készletét szaporítja, hanem minálunk egyenesen az éghajlat sajátosságai által szükségessé vált és számos betegségeket megelőző gyógyszerek sorozatába tartozik” (Entz, 1858).

A gyümölcsök kedvező egészségi hatását egyre több tanulmány támasztja alá, ami elsősorban a gyümölcs héjában és húzában akkumulálódó polifenolos vegyületeknek tulajdonítható. Ezen hatásért a gyümölcsökben felhalmozódó fitokemikáliák tehetők felelőssé. Ezek nagy része (például a flavonoidok) *in vitro* erős antioxidáns, de ennek szerepe a fiziológiai hatás szempontjából egyre kétségesebb. Jelenleg a flavonoidok más tulajdonságait, mint például immunmoduláns és gyulladáscsökkentő-, antivirális-, antibakteriális- vagy trombózisgátló hatását tartják meghatározónak (Martin et al., 2013). A meggy antocianinglukozidjai például jelentős mértékű ciklooxygenáz gátlást mutatnak. Az antibakteriális hatása pedig a nyálban megtalálható, káros baktériumokkal szemben az antocianin felhalmozódás menetével párhuzamosan éres hatására egyre fokozódik (Hevesi et al, 2012). A 2000-es évek elejére már 17 antioxidáns hatású vegyületet mutattak ki belőle, mint például a melatonin, perill alkohol, ellagénsav és egyes flavonoidok, mint az isoqueritrin vagy a queritrin (Kang et. al., 2003).

Hegedűs munkatársaival (2018) azt vizsgálta, hogy a különböző fajták tekintetében milyen eltérések tapasztalhatók. A vizsgálataik kimutatták, hogy ugyanazon faj fajtái (eltérő genotípusok) között jelentős mértékű variabilitás jelentkezik számos polifenolos vegyületcsoport mennyiségében. Azonosítottak olyan meggy (pl. ‘Pipacs 1’ és ‘Fanal’) genotípusokat, melyek összes polifenol-tartalma jelentősen meghaladja a többi fajtára jellemző értékeket. Arra is sikerült választ kapni, hogy ez egy stabil, genetikailag meghatározott tulajdonság, amit az időjárási különbségek és egyéb tényezők csak kis mértékben befolyásolnak (Hegedűs et al.,2018). Abrankóék (2015) vizsgálataiból az is

kiderült, hogy a 'Pipacs 1' gyümölcsében több fenolsav és geniszteinszármazék volt azonosítható, mint más fajtákban (Abrankó et al., 2015). Továbbá sikerült kimutatni azt is, hogy a genisztein daganatos sejtekben gátolja bizonyos mikro-RNS-ek expresszióját. Ezen mikro-RNS-ek mennyisége közvetlenül hat számos, a karcinogenezisben meghatározó szerepet játszó gén kifejeződésére, aminek eredményeként a genisztein jelenlétében gátlódik a sejtosztódás és megtorpan a tumorsejtek növekedése (Karius, 2012). Állatkísérletekben a liofilizált meggy hatására csökkent valamennyi, hyperlipidaemiára utaló paraméter, humán kísérletek alapján pedig igazolódott, hogy a túlzott fizikai igénybevételből eredő izomsérülések kialakulása is mérsékelhető meggylé fogyasztásával (Hegedűs et al, 2018). Mivel a meggy glikémiás indexe (GI 22) jelentősen elmarad a többi csonthéjas gyümölcsőhöz képest (GI 39–57), amit feltehetően a meggy bioaktív vegyületei által kiváltott vércukorcsökkentő hatás és a rosttartalom magyaráz, tovább erősíti annak esélyét, hogy a meggy a cukorbetegség diétájának hasznos szupergyümölcsévé válhasson (McCune et al, 2011).

### **Szilva (*Prunus domestica*)**

A világon összesen 12 millió tonna szilvát állítanak elő, a legjelentősebb termelő országok közé tartozik Kína, Románia, Szerbia és az USA (Csihon, 2022). A gyümölcsök jó része a magas ásványi-elem, vitamin és szerves-sav tartalmuk miatt anyagcserét élénkítő, frissítő hatásúnak tekinthető és az emberi szervezet is jól hasznosítja a gyümölcsök ásványianyag tartalmát (Kajtár-Czinege és Pető, 2016). A szilva, gazdag makro- és mikroelemekben, makroelem tartalma közül a foszfor, magnézium és a kalcium jelentőségét érdemes kiemelni, míg mikroelemek közül a vas, a réz és a cink mennyisége számottevő. A 100 g szilvában általában kb. 0,4 mg vas található, ami hozzájárul a normális vörösvértest-képződéshez és az oxigén szállításához a szervezetben. (Yagmur és Taskin, 2011). A mikroelemek közül a vas és a cink az enzimek fontos alkotóelemeit képezik. A 100g szilvában megtalálható réz mennyisége irodalmi adatok alapján bár eltérő, körülbelül 0,1-0,2 mg/100 g tartományban mozog (Kajtár-Czinege és Pető, 2016), mégis nagy jelentőséggel bír, hiszen nélkülözhetetlen a légzési lánc és a vas anyagcsere működéséhez, és emellett a réz hozzájárul az idegrendszer és az immunrendszer megfelelő működéséhez is (Vetlényi, 2020).



## 4 ANYAG ÉS MÓDSZER

### 4.1 Felhasznált mikroorganizmusok

A gyümölcslevek kiegészítéséhez liofilezett *Lactiplantibacillus plantarum* 299v probiotikus tejsavbaktérium törzset használtam, melynek fagyasztva szárítása a Biomérnök és Erjedéssipari Technológia Tanszéken (Sun et al, 2022) kiegészítés nélkül történt, kapszulázása pedig védőanyag jelenlétében, amely maltodextrin és savó fehérje 1:1 arányú keveréke volt. A felhasznált anyagok arányát és azok típusát 2. számú táblázatban foglaltam össze.

2. táblázat: A vizsgálatok során alkalmazott minták

| Minta megnevezése |                                                         | Kiegészítés módja | Tápközeg    |
|-------------------|---------------------------------------------------------|-------------------|-------------|
| 1                 | liofilizátum                                            | dúsítás           | MRS         |
| 2                 | liofilizátum                                            | dúsítás           | gyümölcsmix |
| 3                 | kapszulázott (maltodextrin : savó fehérje) liofilizátum | dúsítás           | gyümölcsmix |
| 4                 | liofilizátum, raftilin kiegészítés                      | dúsítás           | gyümölcsmix |
| 5                 | liofilizátum                                            | fermentálás       | gyümölcsmix |

Vizsgáltam az alkalmazott probiotikus törzsek antimikróbás hatását is agarlyuk diffúziós módszert segítségével, a kísérlet során felhasznált patogén kórokozókat pedig a 3. táblázatban részleteztem.

3. táblázat: Az antimikróbás hatás vizsgálata során alkalmazott kórokozók

| Felhasznált kórokozók apatogén törzsei | Eredet                                                   |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> 8739           | MATE Mikrobiológia és Alkalmazott Biotechnológia Tanszék |
| <i>Escherichia coli</i> O157:H7        |                                                          |
| <i>Enterobacter cloacae</i>            |                                                          |
| <i>Enterococcus faecalis</i>           |                                                          |
| <i>Listeria monocytogenes</i> 4ab      |                                                          |

## 4.2 Felhasznált tápközegek

### 4.2.1 Laboratóriumi tápközegek

#### MRS (de Man Rogosa Sharpe) tápleves

A 4. táblázatban látható összetevőket táramérleg segítségével lombikba mértem, mágnes keverővel elkevertettem, kémcsövekbe porcióztam és 121°C-on 15 percig autoklávban sterilizáltam.

4.táblázat: MRS (de Man Rogosa Sharpe) táptalaj összetétele

| Összetevő                 | Mennyiség |
|---------------------------|-----------|
| Glükóz                    | 20 g      |
| Proteóz-pepton            | 10 g      |
| Húskivonat                | 8 g       |
| Élesztő kivonat           | 4 g       |
| Nátrium-acetát            | 5 g       |
| Triammónium-citrát        | 2 g       |
| Dikálium-hidrogén-foszfát | 2 g       |
| Tween 80                  | 1 g       |
| Magnézium-szulfát         | 0,2 g     |
| Mangán-szulfát            | 0,05g     |
| Desztillált víz           | 1000 ml   |

#### MRS (de Man Rogosa Sharpe) tápagar

Az összetétele megegyezik az MRS levestével, kiegészítve még 15g/l agar-aggal. Sterilizációja 121°C-on 15 percig autoklávban történt.

#### TSB (Tryptic Soy Broth) tápközeg

Az agardiffúziós teszthez az 5. táblázatban szereplő összetevőket táramérleg segítségével lombikba mértem, mágnes keverővel elkevertettem majd 121°C-on 15 percig autoklávban sterilizáltam.

5. táblázat: TSB (Tryptic Soy Broth) tápközeg összetétele:

| Összetevő       | Mennyiség |
|-----------------|-----------|
| Desztillált víz | 1000 ml   |
| Trypton         | 15 g      |
| Szója pepton    | 5 g       |
| NaCl            | 5 g       |

#### **TSB agar**

Összetétele megegyezik a TSB levesével, kiegészítve szilárd agar esetén 15 g/l agarral.

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

Kísérleteimhez a kereskedelmi forgalomban is kapható Hey-Ho szilva-, Solevita alma- és Happy Day meggy leveket használtam, 1:1:1 arányban vegyítve.

A mintáim közül az egyiket fermentálva készítettem, melyet megelőzően a gyümölcslé pH-ját 4 N NaOH oldat segítségével pH 6,1-re emeltem. A dúsítással készített minták esetén pH állítás nem történt.

A felhasznált gyümölcs alapú tápközégek beltartalmi értékeit a 6-8. számú táblázatok szemléltetik.

6. táblázat: Szilvalé tápanyag összetétele

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

7. táblázat: Almalé tápanyag összetétele

| Tápanyagok             | /100 ml          |
|------------------------|------------------|
| <b>Energiatartalom</b> | 193 kJ / 46 kcal |
| <b>Zsír</b>            | 0,5 g            |
| <b>Szénhidrát</b>      | 11,2 g           |
| <b>amelyből cukrok</b> | 10,7 g           |
| <b>Fehérje</b>         | 0,5 g            |
| <b>Só</b>              | 0,01 g           |

8. táblázat: Meggylé tápanyag összetétele

| Tápanyagok             | /100 ml          |
|------------------------|------------------|
| <b>Energiatartalom</b> | 235 kJ / 56 kcal |
| <b>Zsír</b>            | 0,5 g            |
| <b>Szénhidrát</b>      | 13,2 g           |
| <b>amelyből cukrok</b> | 12,7 g           |
| <b>Fehérje</b>         | 0,5 g            |
| <b>Só</b>              | 0,01 g           |

### 4.3 Felhasznált oldatok

#### *Fiziológiás sóoldat*

A hígítási sor végrehajtásához fiziológiás sóoldatot készítettem, amely 0,85 %-ban NaCl-ot, tartalmazott, ezt 121°C-on, 15 percig autoklávban steriliztem felhasználás előtt.

#### **Folin–Ciocalteu oldat**

Az oldat elkészítéséhez 10 ml Folin–Ciocalteu reagenst (FCR) 90 ml desztillált vízzel egészítettem ki.

#### **Metanol oldat**

A metanol oldat elkészítéséhez 20 ml metanolt 4 ml desztillált vízzel vegyítettem.

#### **0,7 M nátrium-karbonát oldat:**

Az oldat elkészítése során 1000 ml desztillált vízben 74,193 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-ot oldottam fel.

### 4.4 Alkalmazott módszerek

#### **4.4.1 Gyümölcslé dúsítása és fermentálása probiotikummal**

A megfelelően előkészített gyümölcsmixet a dúsítással készült levek esetén beoltás követően folyamatos rázogatás mellett homogenizáltam, majd a kívánt hőmérsékletre helyeztem a lombikokat. A fermentált minták esetén, a beoltást követően 37°C-on inkubáltam a mintákat, míg a pH elérte a 4,6 értéket.

#### **4.4.2 Tárolás**

A fermentált és probiotikummal dúsított gyümölcsleveket 4°C illetve 25 °C tárolási hőmérsékleten helyeztem el, majd 8 hétig követtem a pH, sejtszám, titrálható sav, összes polifenol tartalom alakulását meghatározott időközönkénti mintavétellel.

#### **4.4.3 pH mérés**

A gyümölcslevek pH értékeit végig a Mettler Toledo SevenMulti™ féle pH mérőműszerrel követtem nyomon, melyet a mérések elvégzése előtt a használati útmutatóban leírtaknak alapján kalibráltam. A gyümölcslevek beszennyeződésének megakadályozása végett a pH mérést kis mennyiségben, külön kémcsövek segítségével végeztem. Arra voltam kíváncsi, hogy a baktériumok különböző anyagokkal történő kiegészítése valamint az eltérő hőmérsékleten való tárolás milyen mértékű pH változást eredményez. Ehhez megmértem a kiindulási pH értéket, majd 3 -, 5 - és 8 hét elteltével ismételt méréseket végeztem mind a hűtött mind a szobahőmérsékleten tárolt minták esteében.

#### **4.4.4 Sejtszám meghatározás**

A gyümölcslevekből meghatározott időközönként (3 -, 5 - és 8 hét) mintákat vettem, majd a sejtszám meghatározásához olyan hat tagú tizedelő hígítási sort készítettem melyben 10 ml-es kémcsövekbe 4,5 ml steril fiziológiás sóoldathoz 0,5 ml baktériumtenyészetet adagoltam. A megfelelő hígítási tagokból alapos, vortex-szel történt homogenizálás követően 50 µl-t pipettáztam 55 mm átmérőjű, steril Petri-csészékbe és kb. 10 ml MRS táptagart öntöttem rájuk. A szobahőmérsékleten történő megszilárdulását követően, 37°C-on 48-72 órán át inkubáltam. Ezt követően megszámloltam a kinőtt telepeket, majd telepképző egység/ml (tke/ml) egységben megadtam a sejtszámot.

#### **4.4.5 Összes fenolos komponens meghatározása**

A Folin-Ciocalteu módszer egy általános kolorimetriás vizsgálat, amelyet a minta teljes fenoltartalmának becslésére használnak. Az eljárás alapelve, hogy a Folin-Ciocalteu reagens a fenolok hidroxid csoportjával reakcióba lép, melynek eredményeként spektrofotometriásan mérhető kék komplex képződik, s az oldat abszorbanciája arányos a minta fenoltartalmával.

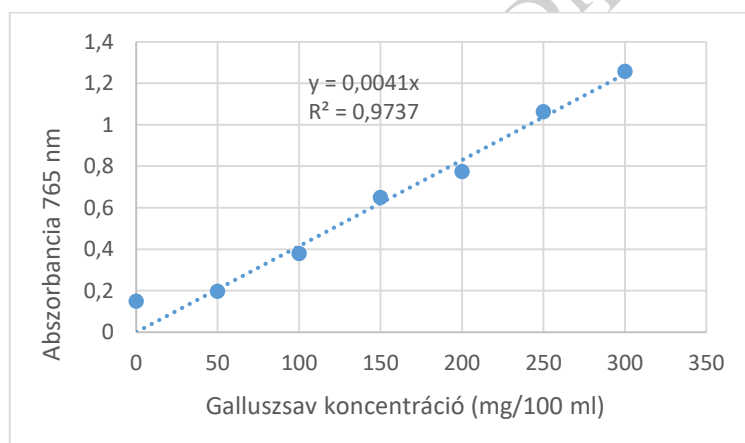
Automata pipetta segítségével 1250 µl Folin-Ciocalteu oldatot és 240 µl metil-alkoholt mértem a kémcsövekbe, melyekhez még a vizsgálandó mintából további 10 µl-t pipettáztam.

Pontosan 1 perc eltelté után 1000 µl Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-tal egészítettem ki a kémcsövek tartalmát, amit homogenizálást követően 5 percre 50°C-os vízfürdőbe helyeztem. Az 5 perc eltelté után műanyag küvettekába töltöttem az oldatokat és spektrofotométer segítségével λ=765 nm-en megmértem az abszorbanciát. Minden mérést két párhuzamos beállítással végeztem. A mért abszorbanciából a kalibrációs görbe segítségével határozzuk meg az összes fenoltartalmat mg galluszsav/ml dimenzióban az alábbi képlet szerint.

$$\text{összes fenoltartalom (mg GAE/ml)} = \frac{\text{abszorbancia} \cdot \text{hígítási tényező}}{\text{minta tömege (ml)}}$$

### Kalibráció

A kalibrációs egyenes felvételéhez 300 mg/100 cm<sup>3</sup> koncentrációjú galluszsav oldatot készítettem, mely kalibrációját az 1. ábrán szemléltetem.



1. ábra: Az összes fenolos komponens meghatározásához használt kalibráló sor

### **4.4.6 Titrálható savtartalom meghatározása**

A titrálható savtartalom az oldatban jelenlévő sav mennyiségére vonatkozik, amelyet jellemzően a minta erős bázissal, például nátrium-hidroxid oldattal történő titrálása során mérnek. A savasság erős bázis hozzáadásával semlegesíthető és ez a semlegesítés titrálási eljárással mérhető. A titrálható savtartalmat a mintában jelenlévő specifikus savak mennyiségével fejezzük ki, mint például a citromsav vagy tejsav.

A titrálható savtartalom desztillált vízzel tízszeresre hígított mintából NaOH oldattal való titrálással került meghatározásra. Mivel a gyümölcsle színe nem tette lehetővé a fenolftalein indikátor melletti titrálást, pH méréssel határoztam meg a titrálás végpontját. Folyamatos kevertetés mellett 0,1 N NaOH-ot csepegtettem a mintába, amíg az el nem érte a pH 8,2-t.

A fogyott mérőoldat mennyiségéből az alábbi képlet segítségével pedig kiszámoltam a gyümölcsle titrálható savtartalmát tejsavra vonatkoztatva (g/100 ml) mértékegységben.

$$\text{titrálható sav} = \frac{\text{NaOH koncentrációja (M)} \cdot \text{NaOH fogyás (ml)} \cdot \text{NaOH faktorszám} \cdot \text{egyenérték} \cdot 100}{\text{bemért mennyiség (ml)}}$$

#### 4.4.7 Antimikrobiális hatás vizsgálata agarlyuk diffúzió segítségével

Az agarlyuk diffúzió egy általánosan használt módszer az anyagok antimikrobiális hatásának vizsgálatára, hiszen egyszerű és költséghatékony eljárás így a kutatásban és az iparban is elterjedt módszer. Az eljárás során lyukakat hozunk létre mikroorganizmussal beoltott szilárd agar táptalajban majd ezeket feltöltjük azzal az előzetesen előkészített oldattal, amelynek az antibakteriális hatását szeretnénk vizsgálni és megvárjuk, hogy a környező agarba diffundáljon. Ha az anyag antimikrobiális hatással rendelkezik, akkor gátlási zónát hoz létre a lyukak körül, ahol a mikroorganizmus nem képes növekedni. A gátlási zóna nagysága arányos az anyag antimikrobiális aktivitásának mértékével. Nagyobb gátlási zóna nagyobb fokú antimikrobiális aktivitást jelez. A gátlási zóna méretét azonban számos tényező befolyásolhatja, beleértve a vizsgált anyag koncentrációját és oldhatóságát, valamint a mikroorganizmus anyagra való érzékenységét.

A steril Petri-csészékbe 200 µl-t pipettáztam a kórokozó mikroorganizmusok 24 órás tenyészeiből, majd TSB agarral lemezt öntöttem. Megszilárdulást követően egy steril kiszűrővel lyukakat készítettem a táptalajba, melyet aztán 100 µL gyümölcsmixszel töltöttem fel. Ezt követően 1 órára hűtőszekrénybe helyeztem, majd 1 napon keresztül 37 °C-on inkubáltam, végül pedig egy vonalzó segítségével megmértem a gátlási zónák átmérőjét.

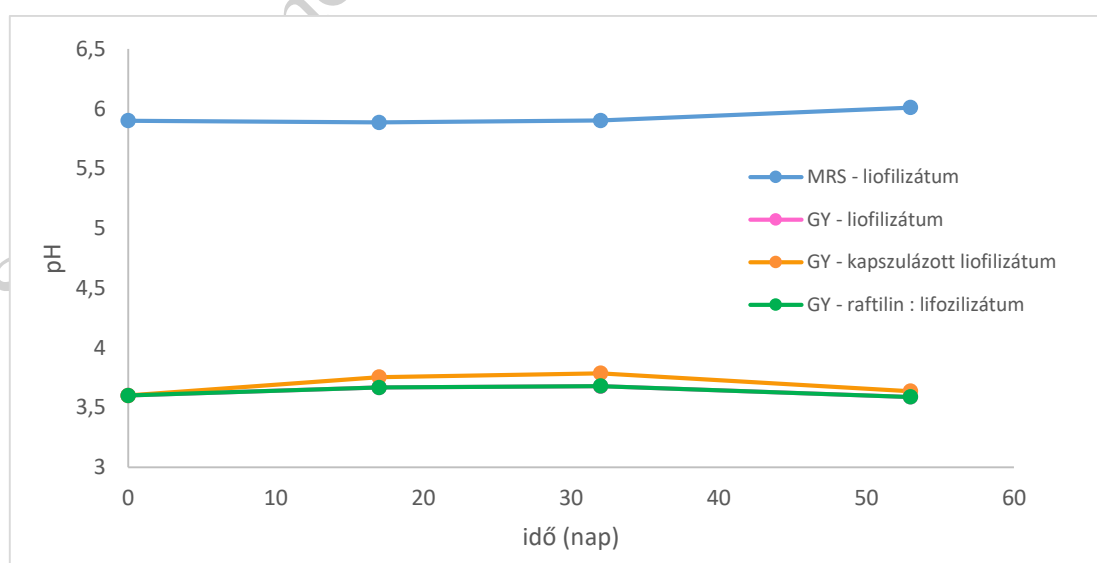
## 5 KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

Kutatómunkám során fermentációval és dúsítással készült probiotikus gyümölcsleveket állítottam elő, s tárolás során követtem a probiotikum életképességének, valamint a gyümölcslé beltartalmi paramétereinek változásait. Meghatároztam az élősejtszámot, a pH-értéket, a titrálható savtartalmat, a teljes fenolos komponens tartalmat és a minták antimikrobás hatását is vizsgáltam mind 4°C-on, mind a szobahőmérsékleten történő tárolás során. Vizsgáltam továbbá hozzáadott prebiotikum esetleges védő hatását a probiotikum életképességére.

### 5.1 Dúsított gyümölcsmixben végbemenő változások 4°C-on történő tárolás során

#### 5.1.1 A pH-értékek változásai

A dúsított gyümölcslevek pH-érték változásait követtem hűtve tárolás során, mely eredményeket a 2. ábrán szemléltetek. A minták kiindulási pH-értékei eltérőek voltak. A MRS tápközeg esetén pH 5,9, a dúsított gyümölcslé minták esetén pedig pH 3,6 volt a kiindulási érték, melyek a 8. hét végén jellemzően pH 6,0 illetve pH 3,6 értékűek, tehát számottevő pH-érték változás nem történt. Minden minta pH-értéke gyakorlatilag a teljes tárolási folyamat során változatlan maradt, hiába állt rendelkezésre megfelelő mennyiségű szénhidrát, a baktériumok a savas közegben, hűtött körülmények között nem szaporodtak, így a savtermelés sem fokozódott.

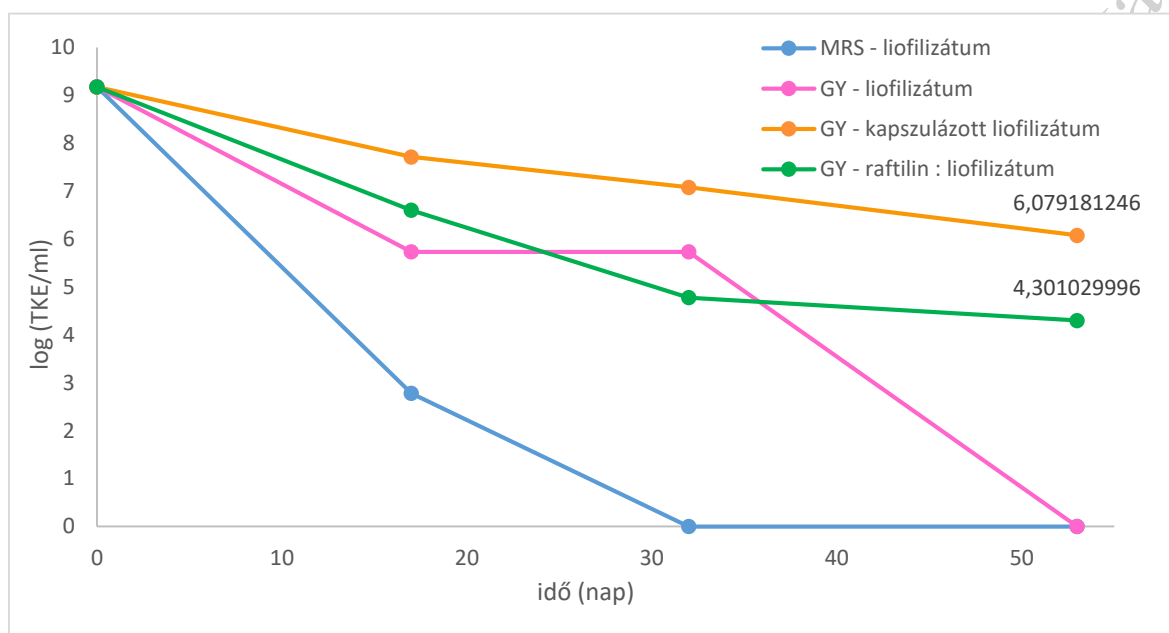


2. ábra: A probiotikummal dúsított MRS tápközeg és gyümölcslevek(GY) pH-értékeinek változásai 4°C-on történő tárolás során



### 5.1.2 Az életképesség alakulása

Az életképesség a gyártás vagy tárolás során alapvető követelmény a probiotikus termékek alkalmazásához. A vizsgált *Lp. plantarum* 299v életképességét az élő sejtszám meghatározásával követtem nyomon a 8 hetes tárolás során. A 4°C-on történő tárolás eredményeit a 3. ábrán szemléltetem. A mintavételre 3 -, 5 - és 8 hét elteltével került sor.



3. ábra: *Lp. plantarum* 299v sejtszámának változása dúsított gyümölcsmixben (GY) és MRS táplevesben 4°C-on történő tárolás során

Az ábra jól szemlélteti, hogy az MRS tápközegebe helyezett védőanyag nélküli minták már a 3. hétre jelentős sejtszámcsökkenést szenvedtek, a vizsgálat végére pedig teljesen elvesztették az életképességüket. A vizsgált minták közül a védőanyaggal kapszulázott minta esetén figyelhettük meg a legmagasabb sejtszámot, mely a 8. hét végére 23%-os csökkenés után még megtartotta a probiotikus terméktől elvárt minimális,  $10^6$  tke/ml-t értéket. Hasonló eredményekről számolt be Ding (2008), aki munkatársaival a szabad sejtek és kalcium-alginát jelenlétében kapszulázott probiotikus baktériumok túlélését vizsgálta narancs és almalében. Mind a két gyümölcsle esetében azt tapasztalták, hogy a védőbevonattal nem rendelkező baktériumok már négy hét tárolás alatt jelentős életképesség csökkenésen estek át, és az ötödik héten sem a narancslében sem pedig az almalében nem tudtak életképes baktériumot kimutatni. Ezzel szemben a kapszulázott *Lp. plantarum* nem veszítette el életképességét és  $10^5$  tke/ml feletti mennyiség volt kimutatható a gyümölcsleveken a hat

hetes tárolás végén is. Ezek az eredmények ugyan elmaradnak a Sun és munkatársai (2023) által tapasztaltaktól, akik arról számoltak be, hogy a maltodextrin és rezisztens keményítő 1:1 arányú védőbevonatát alkalmazva 4°C-on, 11 hét tárolás után almalében a sejtszám még 8,28 log tke/ml volt. Eredményeim alapján a maltodextrin és savófehérje 1:1 arányú alkalmazása is megfelelő védőbevonatot nyújtott. A baktériumok életképessége erősen függ tehát a hordozó-mátrix természetétől, minőségétől és annak összetételétől. A kísérleteim alapján a 2% raftilin hozzáadása a gyümölcsléhez sem biztosított elegendő védelmet a baktériumoknak, hiszen a sejtszám már a 20. nap körül  $10^6$  tke/ml alá csökkent. Érdekes eredmény továbbá, hogy a baktériumok legkevésbé az MRS tápközegben őrizték meg az életképességüket, ugyanis már a harmadik héttől kezdődően  $10^3$  tke/ml alá csökkent az élő sejtszám. Feltételezhető ezáltal, hogy a gyümölcslé tartalmaz olyan komponenseket melyek megvédték a baktériumokat az erősen savas közegben. Shori (2016) vizsgálatai is bizonyították, hogy a szénhidrátok, rostok és fehérjék valamint az antimikrobiális vegyületek jelenléte fontos hatással van a probiotikus baktériumok életképességre. A megfelelő tápanyagok hiánya vagy az antimikrobiális vegyületek jelenléte gyengítheti vagy akár el is pusztíthatja a probiotikus baktériumokat.

A kapott eredmények azt mutatják, hogy a 4 °C-on történő, 8 héten át tartó tárolás során a kiegészítés nélküli minták nem tudtak túlélni a savas közegben, de a maltodextrin és savófehérje 1:1 arányú védőbevonata megfelelő stabilitást nyújtott.

### 5.1.3 Antimikróbás hatás vizsgálata

A különböző módon dúsított minták antimikróbás hatását is vizsgáltam a hűtve tárolás során. A mintavételre 2 hét elteltével került sor, melynek eredményeit a 9. táblázatban foglaltam össze. A négy különböző módon dúsított gyümölcsmix antimikrobiális hatását öt patogén kórokozóra vonatkozólag határoztam meg. A kapott eredményeim azt mutatták, hogy kizárólag a prebiotikummal kiegészített minta biztosított csekély mértékű védőhatást az *Enterococcus faecalis* és a *Listeria monocytogenes 4ab* kórokozókkal szemben. A kiegészítés nélkül és a védőanyaggal kapszulázott minták esetében a kórokozók elleni védőhatás egyáltalán nem volt megfigyelhető. A raftilinnel kiegészített minta védőhatását valószínűleg nem a fenolos vegyületek vagy a tejsav okozták, mivel ebben a mintában sem volt magasabb a fenolos vegyületek vagy a tejsavtartalom, mint a másik három minta esetében. Feltételezhető tehát, hogy a hozzáadott prebiotikumnak köszönhetően olyan anyagokat (például rövid szénláncú zsírsavakat) termeltek, amelyek antimikrobiális hatással

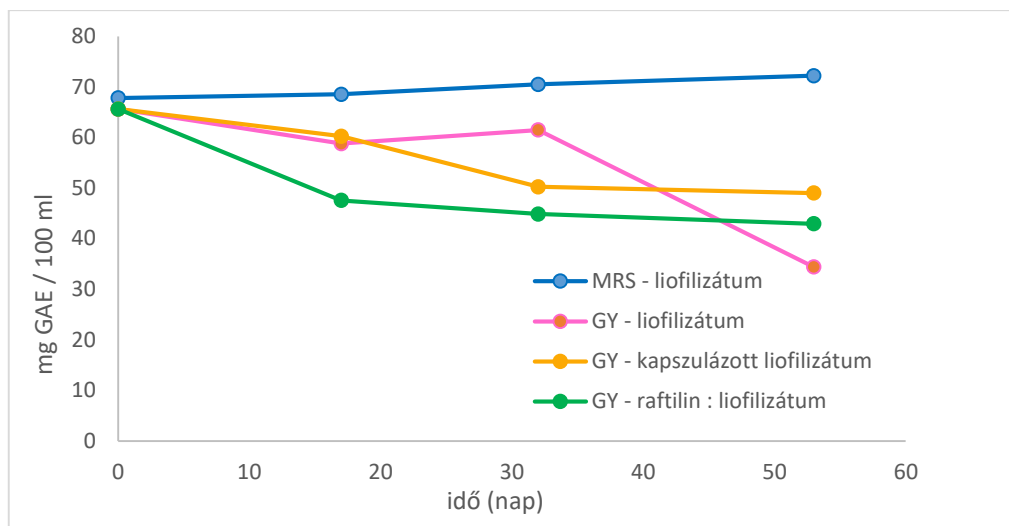
rendelkezik és ezzel hozzájárultak a patogén kórokozók elleni védelemhez. Ez a feltételezés összhangban van a Servin és Coconnier (2003) által leírtakkal, miszerint a prebiotikumok segítik a rövid láncú zsírsavak termelődését, amelyek hozzájárulhatnak a bélnyálkahártya egészségéhez, a gyulladás csökkentéséhez és segít megelőzni a kórokozók elszaporodását a bélrendszerben.

9.táblázat: Antimikróbás hatás vizsgálata hűtve tárolás során

| Patogén kórokozók           | Gátlási zóna mérete (mm) |                      |                                     |                                |
|-----------------------------|--------------------------|----------------------|-------------------------------------|--------------------------------|
|                             | MRS -<br>liofilizátum    | GY -<br>liofilizátum | GY-<br>kapszulázott<br>liofilizátum | GY- raftilin +<br>liofilizátum |
| <i>E. coli</i> 8739         | 0                        | 0                    | 0                                   | 0                              |
| <i>E. coli</i> O157:H7      | 0                        | 0                    | 0                                   | 0                              |
| <i>E. faecalis</i>          | 0                        | 0                    | 0                                   | 1                              |
| <i>L. monocytogenes</i> 4ab | 0                        | 0                    | 0                                   | 1                              |
| <i>E. cloacae</i>           | 0                        | 0                    | 0                                   | 0                              |

#### 5.1.4 Összes fenolos komponens változása

A minták összes fenol tartalmának elemzéséhez a Folin-Ciocalteu módszert alkalmaztam, melynek alapján az antioxidáns aktivitást galluszsav ekvivalens/100 ml egységben adtam meg. A 4. ábra szemlélteti, hogy a dúsított minták esetében a polifenol tartalom csökkent a tárolás során. A probiotikummal dúsított MRS tápközeg esetében szignifikáns változás nem történt, a polifenol tartalom állandónak bizonyult, míg a többi minta esetében erőteljes csökkenést tapasztaltunk. A legmeredekebb csökkenés a kiegészítés nélküli minta esetében tapasztalható, a kezdeti 65,6 mg GAE/100 ml majdnem a felére, 34,39 mg GAE/100ml-re csökkent. Hasonló eredményről számolt be Nematollahi (2016) aki a probiotikus baktériummal dúsított somlő tulajdonságait vizsgálta hűtve tárolás során, és azt tapasztalta, hogy a fenolos vegyületek szintje enyhe csökkenést mutatott a hideg tárolás során. Feltételezései szerint ennek oka a probiotikus baktériumok alacsony hőmérsékleten történő enyhe aktivitása, valamint a mintákban lévő oldott oxigén, ami a fenolos vegyületek oxidációját eredményezte.

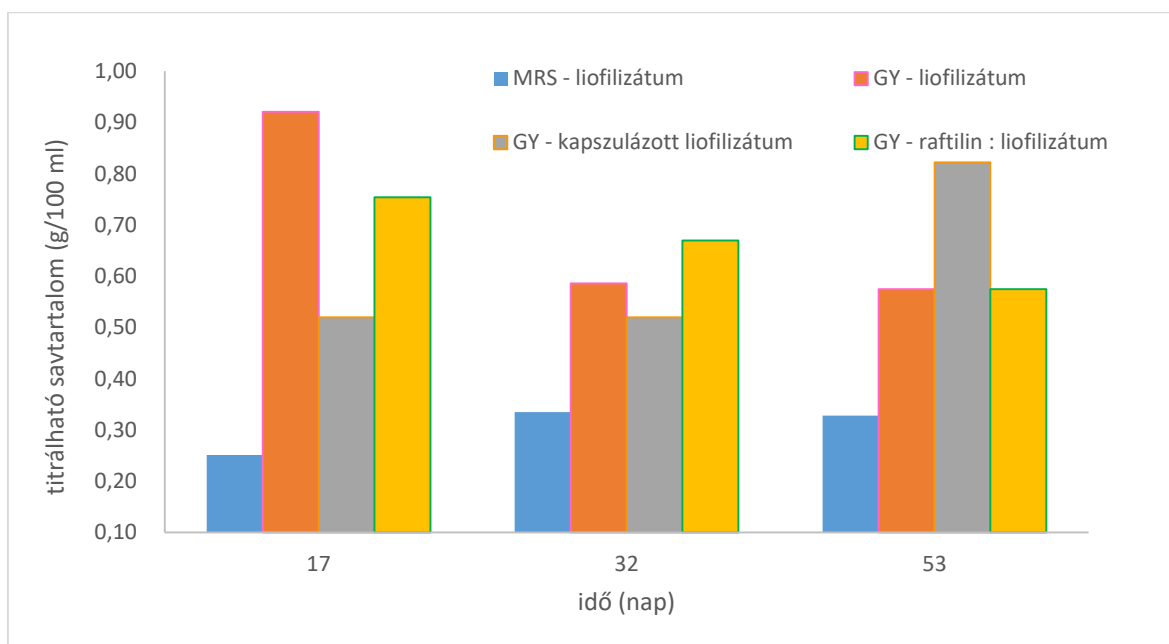


4.ábra: Összes fenolos komponens változása dúsított gyümölcsmixben (GY) és MRS táplevesben 4°C-on történő tárolás esetén

### 5.1.5 Titrálható savtartalom mennyiségének változása

A savtartalom ellenőrzése érzékszervi szempontból kiemelten fontos, mivel a jelenlétük és mennyiségük befolyásolja a késztermék érzékszervi tulajdonságait és emellett a baktériumok életképességét is.

Az általam elvégzett kísérlet során a titrálható savtartalom változását tejsavra vonatkoztatva adtam meg. Az 5. ábrán jól látható, hogy a különböző minták esetében jelentős eltérések tapasztalhatók. Míg a kiegészítés nélküli liofilizátum esetében csökkenés volt megfigyelhető, addig a védőanyaggal kapszulázott mintánál nőtt a titrálható savtartalom mennyisége a gyümölcsmixben. A kiegészítés nélküli liofilizált minta kezdeti 0,92 g/100 ml tejsavtartalma 37,5 %-os csökkenést mutatott a 8. hét végére, ezzel szemben a kapszulázott minta majdnem ugyanekkora növekedést produkált. A savtartalom és a mikroorganizmusok szaporodása között szoros összefüggés tapasztalható, mivel élettevékenységeik során különböző szerves savakat (tejsav és rövid szénláncú zsírsavak) termelnek. Az MRS tápközegben az 5. héttől a tejsavtartalom változatlanak tekinthető, mely azzal magyarázható, hogy nem volt a mintában életképes probiotikum, mely anyagcsere folyamatai révén savtermelést vitt volna véghez. Ugyanez mondható el a liofilizátummal dúsított gyümölcslé mintáról is, melyben a 32. naptól egyre csökkent a baktériumok életképessége. A védőanyaggal kapszulázott minta esetében tapasztaltam a megjelöltőbb tejsavtermelést 0,52 g/100 ml-ről 0,82 g/100 ml-re emelkedett a két hónap alatt, és a legtöbb életképes baktériumot is ebben a mintában mutattam ki.

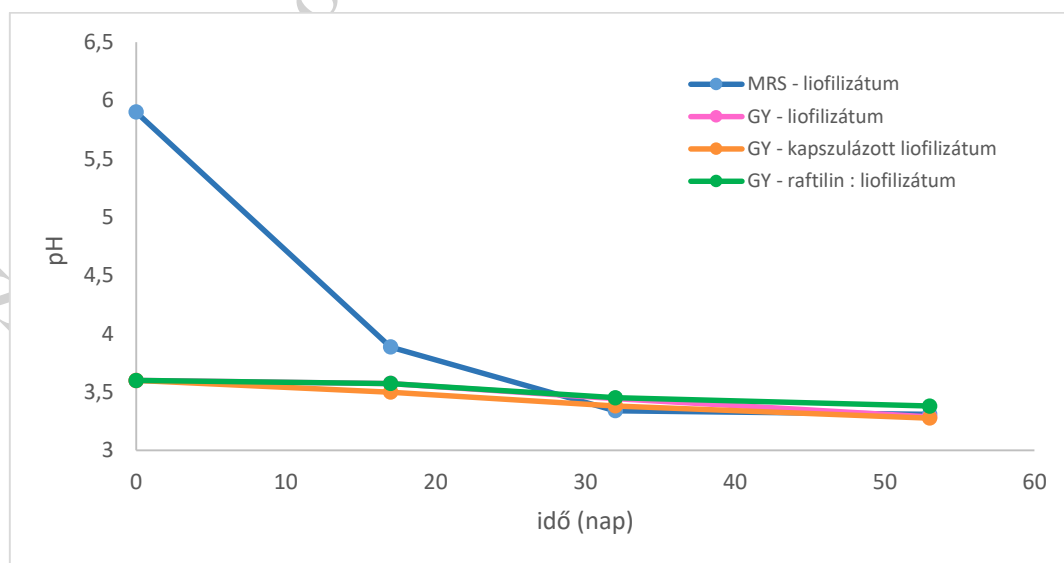


5. ábra: Titrálható savtartalom mennyiségének változása dúsított gyümölcsmixben (GY) és MRS tápvesben 4°C-on történő tárolás során

## 5.2 Dúsított gyümölcsmixben végbemenő változások 25°C-on történő tárolás során

### 5.2.1 A pH-értékek változásai

A gyümölcslé minták kiindulási pH-értéke pH 3,6 volt míg az MRS tápközeg pH 5,9-ről indult.

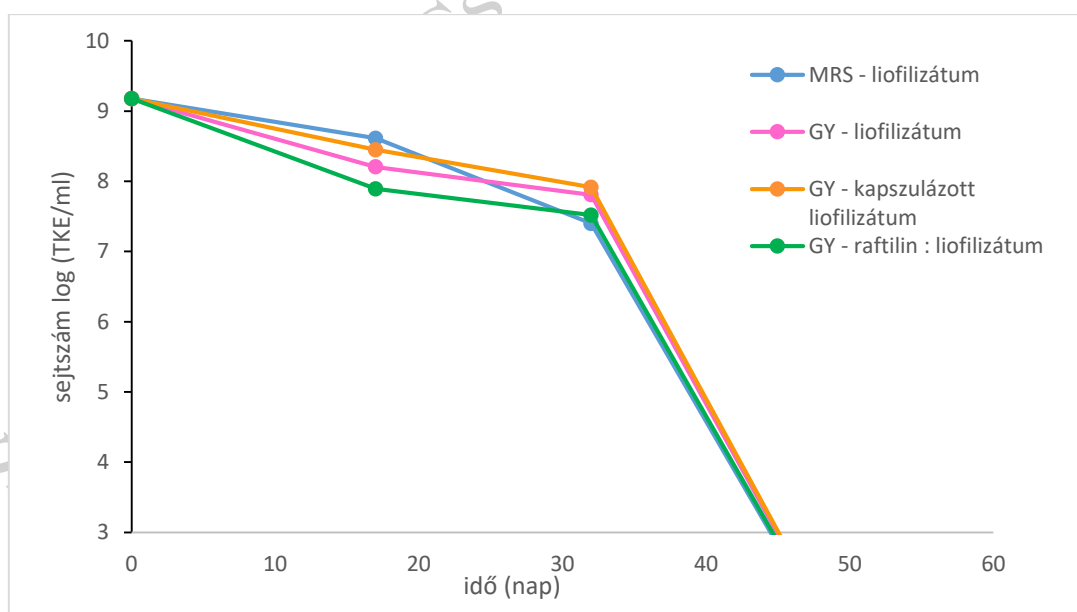


6. ábra: A probiotikummal dúsított MRS tápközeg és gyümölcslék (GY) pH-értékeinek változásai 25°C-on történő tárolás során

A 6. ábra eredményeiből kiderül, hogy a legnagyobb pH-csökkenés a probiotikummal dúsított MRS- tápközeg esetén tapasztalható (pH 5,9-ről pH 3,34-re), de szinte minden beállítás mellett állandó savtartalmat figyelhetünk meg, amely pH 3,5 körüli végső, savas kémhatású gyümölcslevet eredményez. Ez arra vezethető vissza, hogy mivel a baktériumok életképessége egyre csökken, egyre kevesebb olyan metabolitot termelnek, amely a közeg kémhatását befolyásolhatná.

### 5.2.2 Az életképesség alakulása

A minták élő sejtszámát szobahőmérsékleten történő tárolás során is megvizsgáltam, melynek változásai a 7. ábrán nyomonkövethetők. A 30. napig nem történt jelentős változás, hiszen mind a négy minta esetében mindössze egy nagyságrendnyi csökkenést tapasztalhattunk. Azonban a 8 hetes tárolási idő végére már nem lehetett életképes sejtszámot kimutatni egyik mintából sem. Körülbelül a 1 hónapot követően drasztikusan lecsökkent a minták sejtszáma és a 8. hétre  $10^3$  tke/ml alá esett. Az eredmények alapján a szobahőmérsékleten történő tárolás esetében maximum 30 napos minőségmegőrzési időt javasolnék meghatározni.



7. ábra: *Lp. plantarum* 299v sejtszámának változása dúsított gyümölcsmixben (GY) és MRS táplevesben 25°C-on történő tárolás során

### 5.2.3 Antimikróbás hatás vizsgálata

A probiotikumok patogénekkal szembeni antagonista hatásait is vizsgáltam a szobahőmérsékleten tárolt minták esetében is, melynek eredményeit a 10. táblázat szemlélteti.

10.táblázat: Antimikróbás hatás vizsgálata 25°C-on való tárolás során

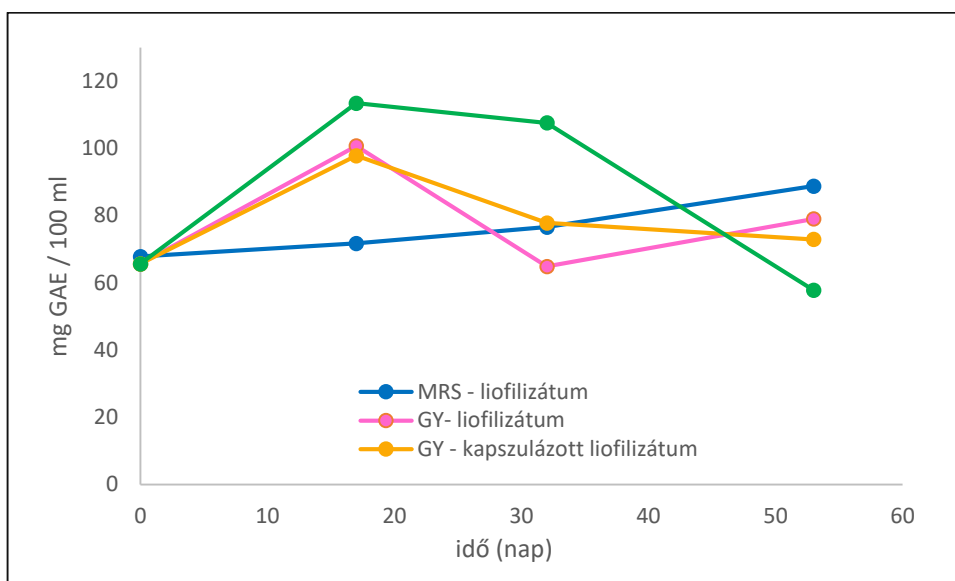
| Patogén kórokozók           | Gátlási zóna mérete (mm) |                       |                               |                             |
|-----------------------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------------|-----------------------------|
|                             | MRS -<br>líoifilizátum   | GY -<br>líoifolizátum | kapszulázott<br>líoifilizátum | raftilin +<br>líoifilizátum |
| <i>E. coli</i> 8739         | 5                        | 0                     | 0                             | 0                           |
| <i>E. coli</i> O157:H7      | 3                        | 0                     | 0                             | 0                           |
| <i>E. faecalis</i>          | 5                        | 0                     | 1                             | 1                           |
| <i>L. monocytogenes</i> 4ab | 4                        | 0                     | 1                             | 1                           |
| <i>E. cloacae</i>           | 3                        | 0                     | 0                             | 0                           |

Az MRS tápközegekben elszaporodott probiotikum valamennyi patogénnel szemben kellően hatékony közeget biztosított, mely annak köszönhető, hogy a vizsgált időszakban a többi mintához képest ez rendelkezett a legmagasabb tejsav tartalommal és összes fenolos komponenssel, amely erőteljesebb antimikrobiális hatást biztosított, mint ami a raftilinnel kiegészített minta vagy pedig a védőanyaggal kapszulázott minta esetén volt tapasztalható. A gyümölcslébe helyezett védőbevonat nélküli minta egyetlen patogén kórokozó szaporodását sem tudta jelentősen befolyásolni, a pusztuló és szaporodó sejtek száma kiegyenlítődött, így számottevő változás nem volt érzékelhető. A prebiotikummal kapszulázott és a prebiotikummal kiegészített minta esetében csak a *E. faecalis* és a *L. monocytogenes* fajokkal szemben figyelhettünk meg csekély gátló hatást. Mivel a nevezett két minta esetében sem volt különösen magas sem a tejsav sem az összes fenolos komponens aránya, így feltehetőleg itt is a rövid szénláncú zsírsavak keletkezésével áll összefüggésben a tapasztalt antagonista hatás.

### 5.2.4 Összes fenolos komponens változása 25°C-on történő tárolás esetén

A szobahőmérsékleten tárolt minták összes fenol tartalmának elemzéséhez is a Folin-Ciocalteu módszert alkalmaztam, s a kapott eredményeket galluszsav ekvivalens/100 ml egységben adtam meg. A kapott eredményeket a 8. számú ábrán foglaltam össze. A vizsgálat során azt tapasztaltam, hogy az prebiotikummal kiegészített minta kivétel minden egyéb minta polifenol tartalma meghaladta a kiindulási értéket. Érdekes adat az is, hogy a tárolás

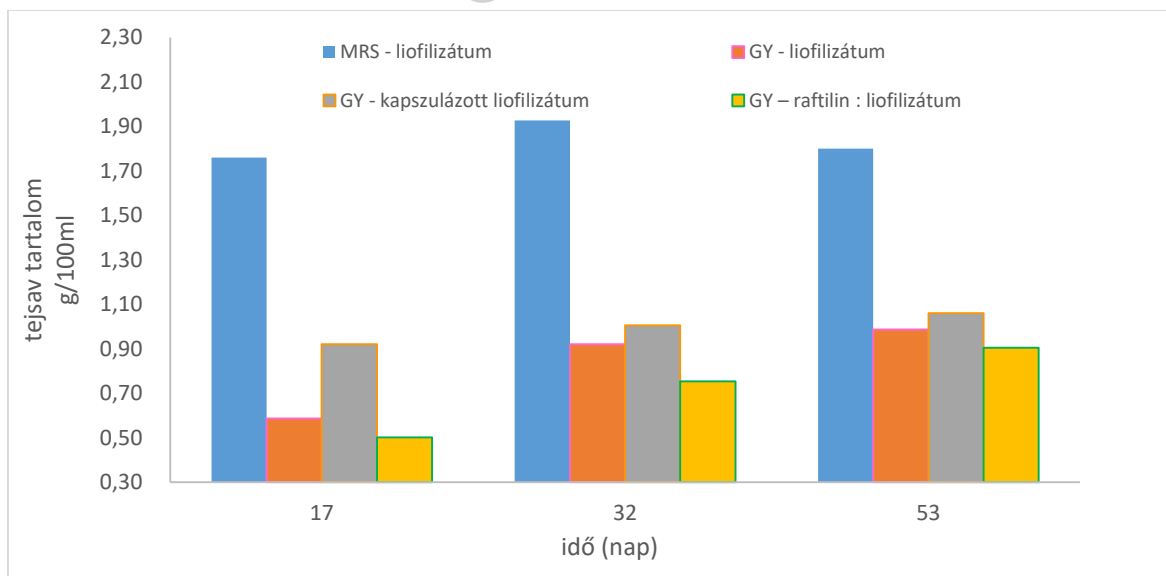
első 3 hetében a polifenol tartalom jelentősen nőtt, majd ahogy a sejtek kezdték elveszíteni az életképességüket azzal egyidejűleg a polifenol tartalom is csökkenésnek indult.



8.ábra: Összes fenolos komponens változása dúsított gyümölcsmixben (GY) és MRS táplevesben 25°C-on történő tárolás esetén

### 5.2.5 Titrálható savtartalom mennyiségének változása

A megfelelő érzékszervi tulajdonságok biztosítása végett elengedhetetlen volt a szobahőmérsékleten tárolt minta savtartalmának vizsgálata is, melyet a 9. ábra foglal össze.



9.ábra: *Lp. plantarum* 299v-vel dúsított gyümölcslé tejsavtartalmának változása dúsított gyümölcsmixben (GY) és MRS táplevesben 25°C-on történő tárolás során



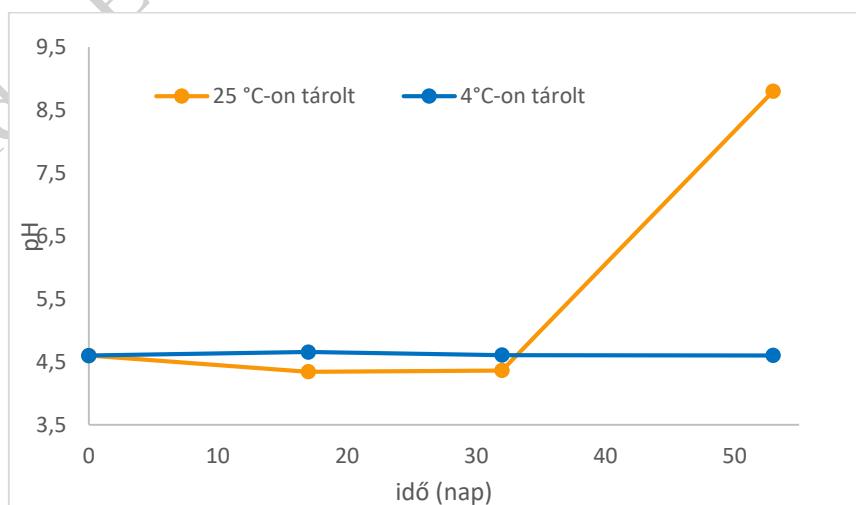
A tejsav mennyiségében eltérő mértékű növekedés figyelhető meg. Az MRS tápközegben a probiotikum szaporodása során keletkezett a tejsav tartalom stabilnak tekinthető, jelentős változást nem volt tapasztalható a 8 hét tárolás alatt, mely szintén a baktériumok csökkenő életképességével magyarázható. A legnagyobb mértékű növekedés a liofilizátummal illetve a prebiotikummal is kiegészített liofilizátummal dúsított gyümölcslevek esetében figyelhető meg, melyek 40% illetve 45% növekedést tudtak produkálni és így a titrálható savtartalmuk az 53. napra 0,98 g/100ml, és 0,9 g/100 ml-re emelkedett.

### 5.3 Fermentált gyümölcslében végbemenő változások a tárolás során

#### 5.3.1 A pH-értékek változásai tárolás során

A dúsított minták mellett fermentációt is megvalósítottam, így a tárolás során a minták kiindulási pH-értéke a fermentáció végi, pH 4,6 mindkét minta esetében. Kezdetben a szobahőmérsékleten tárolt minta pH értékei dinamikusan csökkentek azonban kb. a 25. naptól a jelentős emelkedésnek indult, s így a 8. hét végére pH 8,8 érték volt mérhető, mely azzal hozható összefüggésbe, hogy a vizsgálat során be nem azonosított mikroorganizmussal befertőződött a minta, ezáltal fals adatokat eredményezve. A tejsav tartalom hasznosításra került, így növekedett a pH. Ez is bizonyítja, hogy a dúsított gyümölcslé minták esetén mért pH 3,5-3,6 érték nagyobb mikrobiológiai biztonságot nyújt a terméknek.

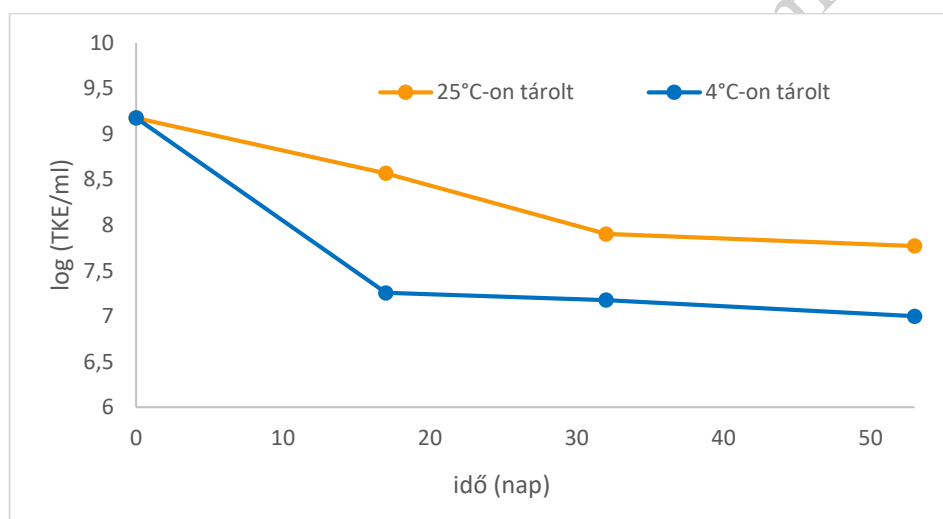
A hűtött minta esetében a maximális csökkenés a 20. napra lezajlott, onnan közel állandó, pH 4,6-érték volt megfigyelhető, ami 25% csökkenést jelentett a kezdeti értékhez képest. A 10. ábráról tehát leolvasható, hogy a hűtve tárolás stabilabb és kedvezőbb pH-értékű gyümölcslevet eredményezett.



10.ábra: Fermentált gyümölcslé pH-értékének változása 4°C-on és 25°C-on történő tárolás során

### 5.3.2 Az életképesség alakulása

A 11. ábra egyértelműen szemlélteti, hogy a szobahőmérsékleten tárolt minták esetében kisebb volt a sejtszámváltozás, míg a hűtve tárolt mintákban kevésbé bizonyultak életképesnek a probiotikus baktérium sejtek. A 25°C-on tárolt gyümölcsmix 7,9 log tke/ml életképes probiotikus baktérium sejtszámmal rendelkezett, ezzel szemben a hűtve tárolt minta majdnem egy nagyságrenddel kevesebb, 7,1 log tke/ml életképes sejtszámot mutatott. A szobahőmérsékleten történő tárolás lehetővé teszi az életképesség fenntartását, akár a baktériumok szaporodását, ezáltal kevésbé csökken az élősejtszám a hűtött tárolás mintáihoz képest. A hűtött tárolás lelassíthatja az anyagcserét és a sejtosztódást. Mind a két mintáról elmondható azonban, hogy a minimálisan elvárt sejtszámtartalmat 8 hét tárolás során is képesek biztosítani.



11.ábra: Fermentált gyümölcsle sejtszámának változása 4°C-on és 25°C-on történő tárolás során

### 5.3.3 Antimikrobás hatás vizsgálata

A fermentált minták esetében még csekély mértékű antimikrobális hatást sem tapasztaltunk, sem a hűtve, sem a szobahőmérsékleten történő tárolás során, melyet az 11. számú táblázat is alátámaszt.

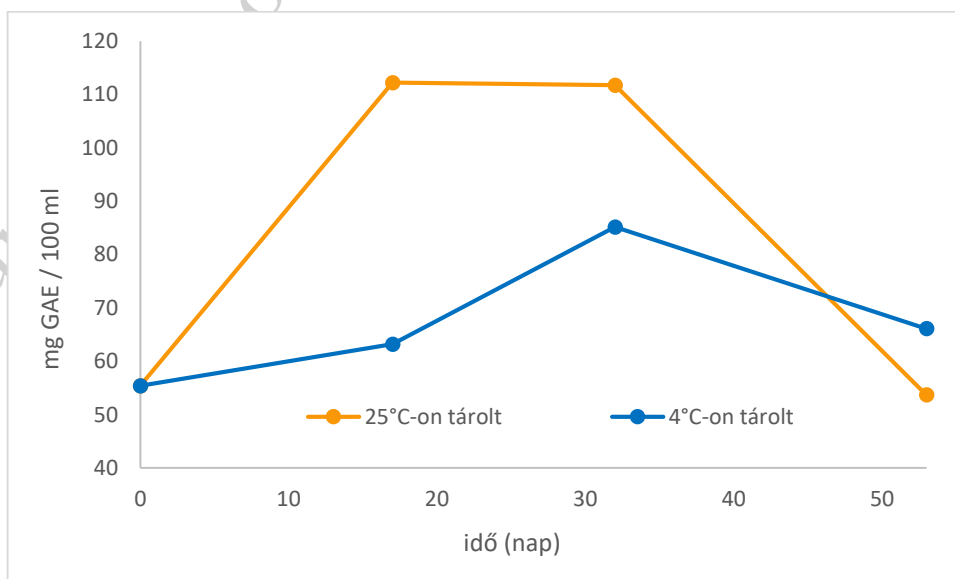
11.táblázat: Antimikrobás hatás vizsgálata 4°C és 25°C-on történő tárolás során

| Patogén kórokozók    | Gátlási zóna mérete (mm) |                      |
|----------------------|--------------------------|----------------------|
|                      | 4°C-on tárolt minta      | 25°C-on tárolt minta |
| E. coli 8739         | 0                        | 0                    |
| E. coli O157:H7      | 0                        | 0                    |
| E. faecalis          | 0                        | 0                    |
| L. monocytogenes 4ab | 0                        | 0                    |
| E. cloaceae          | 0                        | 0                    |

Ezen eredmények arra utalnak, hogy a fermentációs folyamat során keletkező tejsav és egyéb antimikrobiális vegyületek jelen vannak a fermentált gyümölcslevekben, azonban azok koncentrációja nem érte el a hatékonysági küszöböt a vizsgált patogén baktériumokkal szemben, és emellett a fermentáció során elért pH sem kellően alacsony ahhoz, ami hozzájárulhatott volna a patogén baktériumok elszaporodásának megakadályozásához.

#### 5.3.4 Összes fenolos komponens változása tárolás alatt

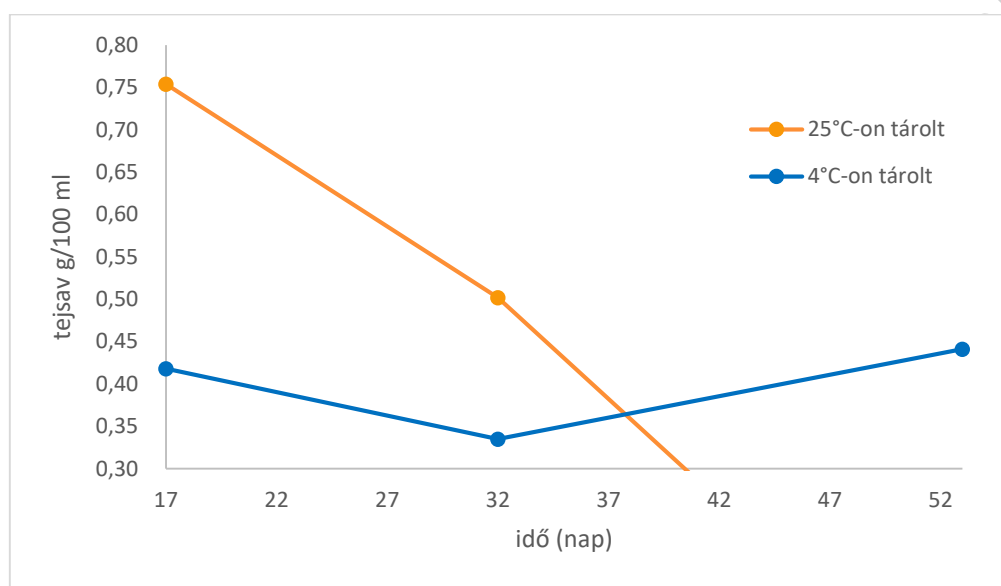
A hűtve és a szobahőmérsékleten tárolt fermentált mintákra vonatkozóan is vizsgáltam a fenolos komponensek változásait. A 12. ábra szemelteti, hogy az összpolicfenol tartalom tekintetében is eltérések tapasztalhatók a különböző hőmérsékleten való tárolás során. A szobahőmérsékleten tárolt minta összes policfenol tartalma dinamikusan nőtt a tárolás során, majd a 4. héttől kezdődően intenzív csökkenés volt megfigyelhető, melyet a kémhatás emelkedése eredményezett. A policfenolok számára a legoptimálisabb tartomány pH 3,5-4,5 között van, amennyiben ettől eltér a kémhatás úgy ezek a vegyületek elveszítik a stabilitásukat, biológiai aktivitásukat és könnyen lebomlanak és így az antioxidáns hatásuk jelentősen csökken vagy akár teljesen el is veszhet (Martin et al., 2013). A hűtve tárolás során azonban közel 10%-kal tudott emelkedni a fenolos vegyületek mennyisége, melyhez hasonlóról számolt be Bujna, aki 2018-ban kollegáival a sárgabarack tejsavas fermentációját vizsgálta különböző baktérium törzsek által és a kísérlet végére megerősítették az antioxidáns kapacitás enyhe növekedését *B. lactis* Bb12 és *L. acidophilus* La5 fermentációja során.



12.ábra: Összes fenolos komponens változása fermentált gyümölcsmixben 4°C-on és 25°C-on történő tárolás esetén

### 5.3.5 Titrálható savtartalom mennyiségének változása

A szobahőmérsékleten tárolt minta pH értékeinek alakulásából következtethető volt, hogy a savtartalomra nézve kedvezőtlenül fog hatni a megnövekedett pH. Ezt támasztja alá a 13. ábra is, mely szerint az szobahőmérsékleten tárolt minta a 8. héten már nem tartalmazott NaOH oldattal való titrálással kimutatható mennyiségű tejsavat. Ezzel szemben a hűtve tárolt minta tejsavtartalma a tárolás során mindössze csak kis mértékben változott, 0,42g/100 ml-ről 0,44g/100 ml-re emelkedett.



13.ábra: Fermentált gyümölcsle titrálható savtartalmának változása 4°C-on és 25°C-on történő tárolás során

## 6 ÖSSZEFOGLALÁS

Az egészséges életmód és az egészséges táplálkozás napjainkban nagyobb népszerűségnek örvend, mint valaha. Egyre több ember keresi az olyan élelmiszereket, amelyek az egészségre gyakorolt kedvező hatásuknál fogva valamilyen előnyt jelentenek a fogyasztó számára. Az ilyen élelmiszerek jótékony hatással lehetnek az emésztésre és az immunrendszerre, valamint az egészséges bélflóra kialakításában is szerepet játszanak. Máig a legnagyobb funkcionális élelmiszercsoportot a tej alapú készítmények jelentik, azonban ezeket a lakosság nagy rész laktóz intolerancia, tejfehérje érzékenység, vallási meggyőződés vagy egyéb ok miatt nem fogyaszthatja. Nekik nyújtanak alternatívát a probiotikumokkal kiegészített gyümölcslevek, melyeket általában *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsekkel egészítenek ki.

Ezen okok ösztönöztek arra, hogy diplomamunkám céljaul a probiotikumokkal kiegészített gyümölcsleveket válasszam, melyek életképességét mind dúsított, mind fermentált gyümölcslevek esetén 4°C és 25°C-on tárolva is vizsgáltam.

A fermentált és dúsított gyümölcslevek elkészítéséhez a kereskedelmi forgalomban kapható, Hey-Ho szilva-, Solevita alma- és Happy Day meggy leveket használtam 1:1:1 arányban vegyítve, melyekhez különböző beállítással fagyasztva szárított tejsavbaktériumot adagoltam. Az első minta esetén a probiotikus baktérium kiegészítés nélküli liofilezett formában került felhasználásra az MRS táplevesben. A második minta kiegészítés nélküli liofilizátumból és gyümölcsmixből állt. A harmadik minta esetében már kapszulázott baktériummal egészítettem ki a gyümölcslevet, mely kapszula maltodextrin és savó fehérje 1:1 arányú keverékéből tevődött össze, s így mag:fal – sejtömeg (1:1):1 arányú. A negyedik mintámat prebiotikummal egészítettem ki, mely 2% raftilin hozzáadásában nyilvánult meg, s legvégül az ötödik minta esetében *L. plantarum*mal fermentáltam a vegyes gyümölcslevet.

Valamennyi szobahőmérsékleten tárolt dúsított minta elveszítette az életképességét a 8. hét végére, a 25°C-on történő tárolás során kizárólag a fermentált minta bizonyult életképesnek, és még a kísérlet végén is  $10^7$  tke/ml életképes sejtszámot lehetett kimutatni benne. A hűtve tárolt minták esetében a kiegészítés nélküli liofilizátumok a kísérlet végére teljesen elvesztették életképességüket míg a védőanyag kiegészítéssel rendelkező baktériumok eltérő sejtszámban ugyan, de életképesnek bizonyultak. A védőanyaggal kapszulázott probiotikummal dúsított gyümölcslében  $10^6$  tke/ml, a prebiotikummal kiegészített gyümölcslében pedig  $10^4$  tke/ml sejtszámot mutattam ki, azonban a hűtve tárolás során is a legtöbb életképes sejt a fermentált mintában volt. Érdeemes lehet megvizsgálni,

hogy a hozzáadott raftilin mennyiségének növelésével a probiotikus baktériumtörzsek túlélése fokozható-e szobahőmérsékleten való tárolás során.

Az életképesség vizsgálat mellett a pH-változást is figyelemmel kísértem, melyből a tejsavbaktériumok savtermelésére tudunk következtetni. Hűtve tárolás esetén a szignifikáns pH változásokat nem tapasztaltunk. A fermentált minta a kezdeti pH 4,6-ról pH 4,5-re csökkent melyet a tárolási idő végéig stabilan tartott. A MRS tápközegben lévő kiegészítés nélküli minta kezdeti pH 5,9-es értéke a harmadik hétre megközelítette a pH 3,5-öt, mely érték megegyezett a kiegészítés nélküli liofilizátum, kapszulázott liofilizátum és a prebiotikum kiegészítéssel rendelkező baktériumot tartalmazó minták pH értékével.

A titrálható savtartalmat tejsavra vonatkozóan adtam meg. A szobahőmérsékleten tárolt minták esetében számottevő tejsavtartalom növekedést nem tapasztaltam, mely azzal áll összefüggésben, hogy ezekben a mintákban voltak a tejsavbaktériumok legkevésbé életképesek, így nem vagy nagyon kis mértékben vittek csak véghez savtermelést. A hűtött minták esetében nem volt ennyire egységes a kép, ugyanis az életképességük is pont ennyire változékony volt. Az MRS tápközegben lévő probiotikum viszonylag hamar elvesztette az életképességét, így ezen minta tejsavtartalma volt a legalacsonyabb és legstabilabb. A prebiotikummal kiegészített gyümölcsleiben az életképesség el ugyan nem veszett, de  $10^6$  tke/ml alá csökkent, mellyel párhuzamosan a tejsavtermelés is csökkenni kezdett. A legmagasabb savtartalmat a legéletképesebb, mikrokapszulázott mintánál tapasztaltuk, mely a kiindulási értékhez képest közel 60% növekedést produkált.

Mindezek mellett vizsgáltam a minták összes fenolos komponens tartalmát is. A szobahőmérsékleten tárolt minták esetében azt tapasztaltam, hogy a prebiotikummal kiegészített minta kivételével minden egyéb minta polifenol tartalma meghaladta a kiindulási értéket. A sejtek életképességének csökkenésével azonban párhuzamosan elindult a polifenol tartalom csökkenés is, mely a 8. hét végére valamivel a kiindulási állapot felett volt, de jóval elmaradt a 17. napon mért értékekhez képest. A hűtve tárolt minták esetében az MRS tápközegben lévő probiotikus minta kivételével, minden minta polifenol tartalma csökkent a tárolás során, mely összefüggésbe hozható a baktériumok alacsony hőmérsékleten történő enyhe aktivitásával és a mintákban lévő oldott oxigénnel, ami a fenolos vegyületek oxidációját eredményezhette.

Az antimikrobiális hatásvizsgálat eredményei is meglehetősen színesen képet festenek. A 4°C-on történő tárolás során a sejtek élettevékenysége olyan mértékben visszaszorult, hogy nem voltak képesek megfelelő koncentrációban előállítani azokat a vegyületeket, amelyek a patogén kórokozók gátlását megvalósíthatták volna. Egyedül a

prebiotikummal kiegészített liofilizátummal kiegészített gyümölcsle mintán tapasztaltam csekély mértékű antagonista hatást kifejteni a *E. faecalis* és az *L. monocytogenes 4ab* kórokozókkal szemben, mely valószínűleg annak köszönhető, hogy a rostokból olyan anyagokat (például rövid szénláncú zsírsavakat) termeltek, amelyek gátolták a kórokozók élettevékenységeit. A szobahőmérsékleten történő tárolás esetében az MRS – liofilizátum minden esetben jól szerepelt. A vizsgált időszakban ez a minta rendelkezett a legmagasabb tejsav és összes fenolos komponens tartalommal, melyek erőteljesebb antimikrobiális hatást biztosítottak, mint a raftilinnel kiegészített minta vagy pedig a kapszulázott minta. A fermentált minták esetében egyáltalán nem volt megfigyelhető gátló hatás, mely összefüggésben állt azzal, hogy a fermentáció végi pH nem volt kellően alacsony a patogének élettevékenységének megakadályozásához.

Bízom benne, hogy a kísérleteim eredményei hozzájárulhatnak ahhoz, hogy a tejterméket nem fogyasztó emberek számára is olyan probiotikus terméket tudjanak alkotni, ami mellett, hogy kellemes érzékszervi tulajdonságokkal és beltartalmi összetevőkkel rendelkezik, hosszú ideig eltartható és ezalatt az idő alatt is képes a lehető legmagasabb sejtszámot megőrizni a megfelelő hasznosulás érdekében.

## 7 FELHASZNÁLT IRODALOM

- Abrankó L., Nagy Á., Szilvássy B., Stefanovits-Bányai É., Hegedűs A., (2015): Genistein isoflavone glycoconjugates in sour cherry (*Prunus cerasus* L.) cultivars. *Food Chemistry* (166): 215–222 DOI: [10.1016/j.foodchem.2014.06.007](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.007)
- Bermon, S., Petriz, B., Kajeniene, A., Prestes, J., Castell, L., Franco, O. L., (2015): The microbiota: an exercise immunology perspective. *Exerc Immunol Review* 21(21): 70-79.
- Blandino, A., Al-Aseeri, M.E., Pandiella, S.S., Cantero, O D., Webb, C. (2003): Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Research International* 36 (6) 527-543
- Borriello, S. P., Hammes, W. P, Holzapfel, W., Marteau, P., Schrezenmeir, J., Vaara, M., Valtonen, V., (2003): Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clinical Infectious Diseases*, 36 (6) 775-780 DOI: [10.1086/368080](https://doi.org/10.1086/368080)
- Bujna E, Farkas N.A., Tran M.A., Dam S.M., Nguyen D.Q., (2018): Lactic acid fermentation of apricot juice by mono- and mixed cultures of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Food Science Biotechnology* (27):547–554.
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., Scher, J. (2011): Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering* 104(4): 467-483 DOI: [doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.12.031](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.12.031)
- Colombel, J.F., Cortot, A., Neut, C., Romond, C. (1987): Yoghurt with *Bifidobacterium longum* reduces erythromycin-induced gastrointestinal effects, *The Lancet*, 330 (8549) 43
- Corbo, M.R., Bevilacqua, A., Petrucci, L., Casanova, F.P., Sinigaglia, M.,(2014): Functional beverages: The emerging side of functional foods commercial trends, research, and health implications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* (13): 1192-1206
- Costa, E., Usall, J., Teixidó o, N., Garcia, N., & Viñas, I. (2000): Effect of protective agents, rehydration media and initial cell concentration on viability of *Pantoea agglomerans* strain CPA-2 subjected to freeze-drying. *Journal of Applied Microbiology* (89): 793–800
- Csapó J., Albert Cs., Csapóné Kiss Zs., (2016): Funkcionális élelmiszerek, múlt, jelen, jövő. *Chimica. Acta Scientiarum Transylvanica*, 23-24. évfolyam,
- Csihon Á. (2022): Fajtahasználat a gyümölcsstermesztésben, *Debreceni Egyetemi Kiadó*, 69-102
- Dill-McFarland, K. A., Tang, Z. Z., Kemis, J. H., Kerby, R. L., Chen, G., Palloni, A., Herd, P. (2019): Close social relationships correlate with human gut microbiota composition. *Scientific reports* 9(1): 1-10 DOI: [10.1038/s41598-018-37298-9](https://doi.org/10.1038/s41598-018-37298-9)
- Ding, W.K., Shah, N.P., (2008): Survival of Free and Microencapsulated Probiotic Bacteria in Orange and Apple Juices. *International Food Research Journal* 15(2): 219-232



DuPont, H.L., Ericsson C.D., (1993): Prevention and treatment of traveler's diarrhea. *New England Journal of Medicine* 328(25):1821-1827

Entz Ferenc (1958): Kertészeti füzetek. XI. füzet, 128

Fonseca, R., Abouzaid, S., Bonafede, M., Cai, Q., Parikh, K., Cosler, L., Richardson, P., (2017): Trends in overall survival and costs of multiple myeloma, 2000-2014. *Leukemia* 31(9):1915-1921 PMCID: [PMC5596206](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25596206/)

Fuller, R., (1989): Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* (66): 365-378

Gibson, G. R., Roberfroid, M. B., (1995): Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of nutrition*, 125(6): 1401- 1412

Gibson, G. R., Wang, X. (1994): Enrichment of bifidobacteria from human gut contents by oligofructose using continuous culture. *FEMS microbiology letters*, 118(1-2): 121-127

Graf, D., Di Cagno, R., Fåk, F., Flint, H. J., Nyman, M., Saarela, M., Watzl, B. (2015): Contribution of diet to the composition of the human gut microbiota. *Microbial Ecology in Health and Disease* 26:26164 PMCID: [PMC4318938](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24318938/)

Grajek W., A. Olejnik A., Sip A., (2005): Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. *Acta Biochimica Polonica*, 52(3): 665-671

Granato, D., Branco, G. 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(3): 292-302

Grati, N., McClements, J. (2012): Encapsulation technologies and delivery systems for food ingredients and nutraceuticals. *Woodhead Publishing* 75-98

Hancioglu, O., Karapinar, M., (1997): Microflora of boza, a traditional fermented Turkish beverage. *International Journal of Food Microbiology* (35): 271–274 DOI: [10.1016/s0168-1605\(96\)01230-5](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(96)01230-5)

Heckly, R. J. (1985). Principles of preserving bacteria by freeze-drying. *Developments in Industrial Microbiology* (26): 379–395

Hegedűs A., Papp N., Blázovics A, Stefanovitsné Bányai É., (2018): A különleges és egyedi polifenolösszetételű meggy egészségi hatásai. *Orvosi hetilap* 159 (18): 720-725

Heller, K.J. (2001): Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2): 374-379. DOI: [10.1093/ajcn/73.2.374s](https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.374s)

Hevesi M., Blázovics A., Kállay E., Stéger-Máté M., Ficzek G., Tóth M., (2012): Biological activity of sour cherry fruit on the bacterial flora of human saliva in vitro. *Food Technol Biotechnol* (50): 117–122

- Holm, F., (2003): New functional food ingredients. Cancers and oxidative degradations. *Institut national de la recherche agronomique* 28-32
- Holzapfel, W.H., Schillinger U. (2002): Introduction to pre- and probiotics. *Food Research International* (35): 109–116
- Hubálek, Z., (2003) - Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. *Cryobiology* 46 (3):205-29.
- Isolauri, E., Sütas, Y., Kankaanpaap, P., Arvilommi, H., Salminen, S., (2001): Probiotics: effects on immunity. *American Journal of Clinical Nutrition* (73):444-450
- Ishibashi, N., Yamazaki, S. (2001): Probiotics and safety. *American Journal of Clinical Nutrition* (73) 465-470  
DOI: [doi.org/10.1093/ajcn/73.2.465s](https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.465s)
- Jiang, T., Mustapha, A., Savaiano, D.A. (1996): Improvement of lactose digestion in humans by ingestion of unfermented milk containing *Bifidobacterium longum*. *Journal of Dairy Science*, 79 (5) 750-757  
DOI: [10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76422-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76422-6)
- Kailasapathy, K., (2002): Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. *Current Issues in Intestinal Microbiology* 3(2):39-48
- Kajtár-Czinege A., Pető J. (2016): Ásványi-anyag tartalom alakulása a szilva gyümölcsében. *Gradus* (2): 32-36  
DOI: <https://doi.org/10.47833/2020.2.AGR.006>
- Kang, H. M., Salway, K. D., Lee, C. Y., (2003): Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance, and disease. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(23): 6923-6939
- Karius, T., Schnekenburger M., Dicato M., Diederich M., (2012): MicroRNAs in cancer management and their modulation by dietary agents. *Biochemical Pharmacology* (83):1591-1601  
DOI: [10.1016/j.bcp.2012.02.004](https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.02.004)
- Karlsson, F., Tremaroli V., Nielsen, J., Bäckhed, F. (2013). Assessing the human gut microbiota in metabolic diseases. *Diabetes* 62 (10): 3341-3349. PMID: [PMC3781439](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24115611/)
- Knekt P., Jarvinen, R., Hakkinen, R., Reunanen, A., Maatela J., (1996): Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *British Medical Journal* (312): 478-481
- Knekt, P., Kumpulainen, J., Jarvinen R., Rissanen H., Heliovaara M., Reunanen A., Hakulinen T., Aromaa A., (2002): Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *American Journal of Clinical Nutrition* (76): 560-568
- Kolida, S., Tuohy, K., Gibson, G. R., (2002): Prebiotic effects of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87(2): 193-197
- Kumar, H., Salminen, S., Verhagen, H., Rowland, I., Heimbach, J., Bañares, S., Young, T., Nomoto, K., Lalonde, M., (2015). Novel probiotics and prebiotics: road to the market. *Current Opinion in Biotechnology* (32): 99-103

- Leslie, S. B., Israeli, E., Lighthart, B., Crowe, J. H., & Crowe, L. M. (1995): Trehalose and sucrose protect both membranes and proteins in intact bacteria during drying. *Applied and Environmental Microbiology* 61(10): 3592–3597. DOI: [10.1128/aem.61.10.3592-3597.1995](https://doi.org/10.1128/aem.61.10.3592-3597.1995)
- Marteau, P., Flourie, B., Pochart, P., Chastang, C., Desjeux, J. F., Rambaud, J. C., (1990): Effect of the microbial lactase (EC 3.2.1.23) activity in yoghurt on the intestinal absorption of lactose: An in vivo study in lactase-deficient humans. *British Journal of Nutrition* 64(1):71-79
- Martin, C., Zhang, Y., Tonelli, C., Petroni, K., (2013): Plants, diet, and health. *Annual Review of Plant Biology* (64): 19-46 DOI: [10.1146/annurev-arplant-050312-120142](https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050312-120142)
- McCune, L.M., Kubota, C., Stendell-Hollis, N.R., Thompson, C. A.; (2011): Cherries and health: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (51). 1-12
- Menrad, K. (2003). Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering* 56(2-3):181-188
- Milani, C., Ferrario, C., Turrone, F., Duranti, S., Mangifesta, M., Van Sinderen, D., Ventura, M., (2016): The human gut microbiota and its interactive connections to diet. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 29(5): 539-546
- Misselwitz, B, Pohl D., Frühauf, H., Fried, M., Vavricka, S. R., Fox, M., (2013): Lactose malabsorption and intolerance: pathogenesis, diagnosis and treatment. *United European Gastroenterology Journal* 1(3):151-159 DOI: [10.1177/2050640613484463](https://doi.org/10.1177/2050640613484463)
- Modler H.W., (1994): Bifidogenic factors, sources, metabolism and application. *International Dairy Journal*, 4 (5) 383-407
- Nagy J., Schmidt J., Jávorski, A., (2008): A jövő élelmiszerei és az egészség. *Debreceni Egyetem Agrár-és Műszaki Tudományok Centruma*, 197-211
- Nagy Sz. – Piskóti I. (2007): Innováció a funkcionális élelmiszerek területén, Miskolci Egyetem, Marketing Intézet, DOI: [10.13140/RG.2.1.3149.3287](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3149.3287)
- Nematollahi, A., Sohrabvandi, S., Mortazavian, M. A., Jazaeri, S., (2016): Viability of probiotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry juice during cold storage. *Electronic Journal of Biotechnology* (21): 49-53 DOI: [doi.org/10.1016/j.ejbt.2016.03.001](https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2016.03.001)
- 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(3): 1037-1044. DOI: [10.1016/j.foodchem.2011.05.071](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.071)
- Okasanen, P.J., Salminen, S., Saxelin M., (1990): Prevention of traveler's diarrhea by *Lactobacillus GG*. *Annals of Medicine* (22): 53-56
- Palmfeldt, J., Hahn-Hagerdal, B., (2000): Influence of culture pH on survival of *Lactobacillus reuteri* subjected to freeze-drying. *International Journal of Food Microbiology* 55(1-3):235-238

Papp-Bata Á., Csiki Z., Szakály Z., (2014): A funkcionális élelmiszerek egészségügyi és gazdasági jelentősége. *Debreceni Egyetem, Gazdálkodástudományi és Vidékfejlesztési Kar, Marketing és Kereskedelem Intézet*

Passos, M. L., Ribeiro, C. P., (2009): Innovation in Food Engineering New Techniques and products. *CRC Press*: 224-226, 226-228

Pimentel, T. C., Madrona, G. S., Prudencio, S. H. (2014): Probiotic clarified apple juice with oligofructose or sucralose as sugar substitutes: Sensory profile and acceptability. *LWT - Food Science and Technology* 1-9

Rakin M., Vukasinovic M., Siler-Marinkovic S., Maksimovic M.,(2007): Contribution of lactic acid fermentation to improved nutritive quality vegetable juices enriched with brewer's yeast autolysate. *Food Chemistry* (100): 599–602

Ross, R.P., Desmond, C., Fitzgerald, G.F., Stanton, C. (2005): Overcoming the technological hurdles in the development of probiotic foods. *Journal of Applied Microbiology* (98): 1410–1417

Ruan, W., Engevik, M. A., Spinler, J. K., Versalovic, J. (2020): Healthy Human Gastrointestinal Microbiome: Composition and Function After a Decade of Exploration. *Digestive Diseases and Sciences* (65) 695–705

Saarela, M., Virkajarvi, I., Nohynek, L., Vaari, A., Matto, J., (2006): Fibres as carriers for *Lactobacillus rhamnosus* during freeze-drying and storage in apple juice and chocolate-coated breakfast cereals. *International Journal of Food Microbiology* 112 (2): 171-178

Saarela, M., Lähteenmäki, L., Crittenden, R., Salminen, S., Mattila-Sandholm, T. (2002): Gut bacteria and health foods—the European perspective. *International Journal of Food Microbiology* 78(1-2):99-117

Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J., Mattila-Sandholm, T. (2000): Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology* (84):197–215

Saavedra, J. M., Bauman, N. A., Oung I., Perman J. A., Yolken H. R., (1994): Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *The Lancet*, 344 (8929): 1046-1049.

Salminen, S., Bouley C., Boutron-Ruault, M. C., Cummings, J. H., Franck, A., Gibson, G. R, Isolauri, E., Moreau, M. C., Roberfroid, M., Rowland, I., (1998): Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *British Journal of Nutrition*, 80 (1): 147-171

Servin, A L., Coconnier, R M-H. (2003): Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and interaction with pathogens. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 17 (5): 741-754

Shah, N.P. (2000): Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 83 (4) 894-907 DOI: [doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74953-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74953-8)

Shori, A.B., (2016): Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. *Food Bioscience* (13): 1-8 DOI:[doi.org/10.1016/j.fbio.2015.11.001](https://doi.org/10.1016/j.fbio.2015.11.001)

Siró I., Kápolna E., Kápolna B., Lugasi A. (2008): Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance – A review. *Appetite* (51): 456-467

Sloan, E. (2006): TOP 10 Trends in Functional Food, *Food Technology* 58(4):28-51

Stanton, C., Gardiner, G., Meehan, H., Collins, K., Fitzgerald, G., Lynch, P. B., Ross, R. P. (2001): Market potential for probiotics. *The American Journal of Clinical Nutrition* 73 (2): 476-483 DOI: [doi.org/10.1093/ajcn/73.2.476s](https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.476s)

Sun W., Nguyen Q.D., Süli K.B., Alarawi F., Szécsi A., Gupta K.V., Friedrich L., Gere A., Bujna E., (2023): Microencapsulation and Application of Probiotic Bacteria *Lactiplantibacillus plantarum* 299v Strain. MDPI, *Microorganisms* 11(4) DOI:[doi.org/10.3390/microorganisms11040947](https://doi.org/10.3390/microorganisms11040947)

Sybesma, W.F., Hugenholtz, J. (2004): Food fermentation by lactic acid bacteria for the prevention of cardiovascular disease. 448–474. In: *Functional foods, cardiovascular disease and diabetes*. Arnoldi A (ed). CRC Press, Boca Raton, USA

Szakály, Z. – Kiss, M. – Jasák, H. (2014): Funkcionális élelmiszerek, fogyasztói attitűdök és személyre szabott táplálkozás. *Táplálkozásmarketing*, 1(1-2), 3–17

Teixeira, P., Castro, H., Kirby, R. (1995). Spray drying as a method for preparing concentrated cultures of *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal of Applied Microbiology* (78): 456–462

Tripathi, M. K., Giri, S. K. (2014): Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods* (9):225-241 DOI:[10.1016/j.jff.2014.04.030](https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.04.030)

Trowel, H., Burkitt, D. (1986): Physiological role of dietary fiber: a ten year review. *Boletín de la Asociación Médica de Puerto Rico* 78 (12): 541-544

Tuohy, K.M., Probert, H.M., Smejkal CH.W., Gibson G.R. (2003): Using probiotics and prebiotics to improve gut health. *Drug Discovery Today* 8 (15): 692-700

Tuorila, H., Cardello A. V., (2002): Consumer response to an off-flavour in juice in the presence of specific health claims. *Food Quality and Preference* 13(7):561-569

Tymczyszyn, E. E., Santo, s M. I., Costa, M. D. C., Illanes, A., Gomez-Zavaglia, A. (2014): History, synthesis, properties, applications and regulatory issues of prebiotic oligosaccharides. *Carbohydrates Applications in Medicine* 127-154

Vasudha, S., Mishra, H. N., (2013): Non dairy probiotic beverages. *International Food Research Journal* 20(1): 7-15

Vetlénny E., Rácz G. (2020): A réz élettani funkciója, a rézfelhalmozódás és a rézhiány kóroktani szerepe. *Orvosi hetilap* 161 (35): 1488-149 DOI: [10.1556/650.2020.31854](https://doi.org/10.1556/650.2020.31854)

Vinson, J, Su, X., Zubik, L., Bose, P., (2001): Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(11):5315-5321

Wacha, J., (2011): A probiotikumok helye az evidencián alapuló orvoslásban. *Metabolizmus* 9 (1): 31-34

Wolfe, K., Wu, X., Liu, R.H., (2003): Antioxidant Activity of Apple Peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (51): 609-614.

Yagmur, C., Taskin, M. (2011): Study on changes in mineral content of plum (*Prunus domestica*) and strawberry (*Fragaria×ananassa*) during canning. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 81(8):723-728

Zuidam, N. J., Nedovic, V. A., (2010): Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing. *Springer* (6): 22-25

Internet 1: KSH halálozási adatok a gyakoribb halálokok szerint: <https://www.ksh.hu/ffi/1-17.html>

Internet 2: Az Európai Parlament és a Tanács 1924/2006/EK rendelete (2006. december 20.) az élelmiszerekkel kapcsolatos, tápanyag-összetételre és egészségre vonatkozó állításokról: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HU/TXT/?uri=celex%3A32006R1924>

Internet 3: A Bizottság 432/2012/EU rendelete (2012. május 16.) a betegségek kockázatának csökkentését, illetve a gyermekek fejlődését és egészségét érintő, élelmiszerekkel kapcsolatos, egészségre vonatkozó, engedélyezett állítások jegyzékének megállapításáról : <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HU/ALL/?uri=celex%3A32012R0432>

Internet 4: <https://www.fortunebusinessinsights.com/functional-foods-market-102269>

## KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetemet és hálámat szeretném kifejezni a konzulensemnek, Dr. Bujna Erika egyetemi docensnek a szakdolgozatom elkészítése során nyújtott közreműködéséért, akinek a rengeteg segítsége és útmutatása nélkül nem jöhetett volna létre a diplomamunkám. Szeretnék még köszönetet mondani a családomnak, barátaimnak akik támogatottak és bíztattak az egyetemi éveim alatt, továbbá szeretnék köszönetet mondani mindenkinek, aki valamilyen formában hozzájárult a dolgozatom elkészítéséhez.

Sándor Emőke Csenge - Diplomamunka



## Szerzői nyilatkozat

Alulírott Sándor Emőke Csenge, a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Élelmiszertudományi Karának, Élelmiszermérnök MSc. Élelmiszer-biotechnológia szakos levelező tagozatos hallgatója kijelentem, hogy a **„Tejsavbaktériumok életképességének vizsgálata egyes gyümölcslevegekben”** című diplomamunka a saját munkám eredménye. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, s az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

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

Budapest, 2023.05.09.



a hallgató aláírása



## NYILATKOZAT

### a diplomadolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Sándor Emőke Csenge  
A Hallgató Neptun kódja: SG49QT  
A dolgozat címe: Tejsavbaktériumok életképességének vizsgálata vegyes gyümölcslevekben  
A megjelenés éve: 2023  
A tanszék neve: Biomérnök és Erjedéssipari Technológia Tanszék

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

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

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

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

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

Kelt: Budapest, 2023.05.09.



Hallgató aláírása

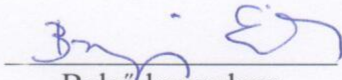
## KONZULTÁCIÓS NYILATKOZAT

Sándor Emőke Csenge (Neptun azonosítója: SG49QT) 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 8.

  
Belső konzulens