

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Perjéssy Judit

Budapest

2023



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

**PROBIOTIKUS *LACTOBACILLUS* TÖRZZSEL TEJSAVASAN
FERMENTÁLT, NÖVÉNYI ALAPÚ LEVEK FEJLESZTÉSE**

DOI: 10.54598/003940

Perjéssy Judit

Budapest

2023

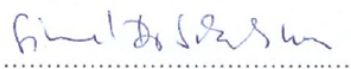
A doktori iskola

Megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

Tudományága: Élelmiszertudományok

Vezetője: Simonné Dr. Sarkadi Livia
Egyetemi tanár, MTA doktora
Magyar Agrár- és Élettudományi
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Táplálkozástudományi Tanszék

Témavezető: Dr. Zalán Zsolt
Tudományos főmunkatárs, PhD
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Biomérnök és Erejedésipari Technológia Tanszék



Az iskolavezető jóváhagyása



A témavezető jóváhagyása

TARTALOM

1. BEVEZETÉS	1
Célkitűzések.....	2
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	3
2.1. Fermentáció történelmi áttekintése	3
2.2. Tejsavbaktériumok.....	4
2.2.1. Tejsavbaktériumok metabolizmusa	5
2.2.2. Antimikrobiális komponensek.....	7
2.2.3. Tejsavbaktériumok aromaanyag termelése	10
2.2.4. γ -aminovajsav (GABA) termelés	11
2.2.5. <i>Lactobacillus</i> nemzetség	12
2.3. Tejsavasán erjesztett élelmiszerek	13
2.3.1. Tejalapú fermentált élelmiszerek.....	14
2.3.2. Nem-tejalapú fermentált élelmiszerek.....	15
2.4. Probiotikumok	17
2.4.1. Probiotikumok jellemzése	17
2.4.2. Probiotikumok kritériumai	18
2.4.3. Probiotikumok egészségre gyakorolt hatása	20
2.4.4. Probiotikus élelmiszerek	23
2.5. Prebiotikumok.....	27
2.6. A kísérletekbe bevont zöldségek és gyümölcsök bemutatása	28
2.6.1. Narancs	28
2.6.2. Meggy.....	28
2.6.3. Szilva	29
2.6.4. Fekete törpeberkenye.....	30
2.6.5. Birsalma.....	30
2.6.6. Paradicsom	31
3. KÍSÉRLETI ANYAGOK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK.....	32
3.1. Alkalmazott <i>Lactobacillus</i> törzsek	32
3.2. Alkalmazott táptalajok és összetételük	32
3.3. Alkalmazott növényi nyersanyagok.....	34
3.4. Fermentációs kísérletek	35
3.5. Alkalmazott vizsgálati módszerek	36
3.5.1. Élősejtszám meghatározás szélesztéses módszerrel	36
3.5.2. Élősejtszám meghatározás Miles és Misra módszerrel	36
3.5.3. Növekedési ráta	36

3.5.4.	pH mérés	36
3.5.5.	Titrálható savtartalom meghatározás	37
3.5.6.	Összes oldott szárazanyag-tartalom mérés	37
3.5.7.	Összes polifenol tartalom meghatározás Folin-Ciocalteu reagenssel	37
3.5.8.	Antioxidáns kapacitás mérés FRAP módszerrel	37
3.5.9.	DPPH gyök megkötésén alapuló antioxidáns kapacitás mérés	38
3.5.10.	Flavonol- és antocianin-tartalom mérés HPLC módszerrel	38
3.5.11.	γ -aminovajsav (GABA) kimutatása vékonyréteg kromatográfiával	39
3.5.12.	Sejtaktivitás mérés MTT kolorimetriás módszerrel	39
3.5.13.	Gátlás vizsgálat agar lyuk diffúziós módszerrel	39
3.5.14.	Tárolási kísérletek	40
3.5.15.	Tejsavbaktériumok izolálása fermentált zöldségekről	40
3.5.16.	Izolált tejsavbaktériumok vizsgálata PCR módszerrel	42
3.6.	Kísérlettervezés, statisztikai módszerek	44
3.6.1.	One-way ANOVA	44
3.6.2.	Taguchi kísérlettervezési módszer	45
3.6.3.	Plackett-Burman kísérleti terv	45
3.6.4.	Központi elrendezésű kísérleti terv	45
3.6.5.	Túlélés analízis	46
4.	EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELEÉSÜK	47
4.1.	Narancslé tejsavas fermentációja	47
4.1.1.	Előkísérlet	47
4.1.2.	Kiegészítő tápanyagok koncentrációinak optimalizációja	49
4.1.3.	Tárolási kísérlet	50
4.1.4.	<i>Lactobacillus</i> törzsszelekció narancslére, tárolási kísérlettel	51
4.1.5.	Prebiotikum hozzáadásának vizsgálata narancslében	61
4.1.6.	Összegzés	62
4.2.	Meggy tejsavas fermentációja	64
4.2.1.	Előkísérlet	64
4.2.2.	Nyersanyag optimalizálása	65
4.2.3.	<i>Lactobacillus</i> törzsszelekció meggylére	67
4.2.4.	Tárolási kísérlet	71
4.2.5.	Összegzés	73
4.3.	Szilva tejsavas fermentációja	75
4.3.1.	Előkísérlet	75

4.3.2.	Nyersanyag kiegészítésének, fermentációs paraméterek beállításának optimalizálása.....	75
4.3.3.	<i>Lactobacillus</i> törzsszelekció szilvalére	76
4.3.4.	Összegzés	79
4.4.	Fekete törpeberkenye tejsavas fermentációja	81
4.4.1.	Előkísérlet.....	81
4.4.2.	MRS táplevessel kiegészített berkenye	82
4.4.3.	Taguchi kísérlettervezési módszer tápanyagkiegészítésre	82
4.4.4.	pH és pepton koncentrációjának optimalizációja	83
4.4.5.	<i>Lactobacillus</i> törzsszelekció fekete berkenyelére	83
4.4.6.	Összegzés	86
4.5.	Birsalma tejsavas fermentációja	88
4.5.1.	Előkísérlet.....	88
4.5.2.	Taguchi kísérlettervezési módszer tápanyagkiegészítésre	88
4.5.3.	pH és pepton koncentrációjának optimalizációja	89
4.5.4.	<i>Lactobacillus</i> törzsszelekció birsalmalére	89
4.5.5.	Összegzés	93
4.6.	Paradicsomlé tejsavas fermentációja	94
4.6.1.	Paradicsomok feldolgozása	94
4.6.2.	Előkísérlet.....	95
4.6.3.	<i>Lactobacillus</i> törzsszelekció paradicsomlére	96
4.6.4.	Tárolási kísérlet	99
4.6.5.	Paradicsomfajták fermentációs vizsgálata.....	100
4.6.6.	Liofilizált és friss <i>Lactobacillus</i> tenyészet szaporodásának összehasonlítása..	101
4.6.7.	Összegzés	102
4.7.	<i>Lactobacillus</i> -ok szelekciója a fermentációhoz.....	104
4.7.1.	<i>Lactobacillus</i> -ok izolálása fermentált zöldségekről	104
4.7.2.	Izolált baktériumok PCR vizsgálata	104
4.7.3.	Sejtaktivitás mérése MTT kolorimetriás módszerrel.....	106
4.7.4.	γ -aminovajsav kimutatása vékonyréteg kromatográfiával	106
4.7.5.	Izolált <i>Lactobacillus</i> törzsek vizsgálata paradicsomlében.....	107
4.8.	Konklúzió.....	109
5.	KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	112
6.	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	114
7.	ÖSSZEFOGLALÁS.....	116
	SUMMARY	120

MELLÉKLETEK.....	124
M1. Irodalomjegyzék	124
M2. Narancslé eredmények.....	148
M3. Meggylé eredmények.....	159
M4. Szilvalé eredmények.....	174
M5. Fekete berkenyelé eredmények.....	181
M6. Birsalmalé eredmények.....	188
M7. Paradicsomlé eredmények	193
M8. <i>Lactobacillus</i> primerek	204
M9. <i>Lactobacillus</i> -ok szelekciója.....	205
Köszönetnyilvánítás	207

Rövidítések jegyzéke:

GABA = (gamma-aminobutyric acid) γ -aminovajsav

IBD = (inflammatory bowel disease) Gyulladásos bélbetegség

IBS = (irritable bowel syndrome) Irritábilis bél szindróma

L. = *Lactobacillus*

LAB = (lactic acid bacteria) Tejsavbaktérium

MRS = De Man, Rogosa és Sharpe tápközeg

OD = Optikai denzitás

SCFA = (short-chain fatty acid) Rövid láncú zsírsav

TKE = Telepképző egység

TA = (titratable acidity) Titrálható savtartalom

TSS = (total soluble solids) Összes oldott szárazanyag-tartalom

Alkalmazott *Lactobacillus*-ok

L. acidophilus 150 = L150

L. acidophilus LA-5 = LA-5

L. acidophilus N2 = N2

L. casei 01 = LC-01

L. casei Shirota = Shirota

L. fermentum D13 = D13

L. fermentum DT41 = DT41

L. plantarum 2142 = 2142

L. reuteri DSM 17938 = Reuteri

L. rhamnosus GG = LGG

1. BEVEZETÉS

A tejsavas fermentáció több ezer éves múltra tekint vissza, amely segítségével már a korai civilizációkban élelmiszereket állítottak elő, ahol az elsődleges szempont a nyersanyag tartósítása és emészthetőségének növelése volt. A tej savanyítása mellett a zöldségek tejsavas fermentációja is hamar tért nyert és az így készült ételek minden kontinensen máig is az étrend szerves részét képezik. Sok esetben azonban ezen termékek előállítására spontán fermentációval történik, pedig starterkultúra alkalmazásával a termék mikrobiológiai biztonsága és állandó minősége biztosítható lenne. A tejsavas fermentáció által kialakított ételek jótékony egészségi hatásai már az ókor óta ismertek, Metchnikoff óta pedig tudományosan is bizonyítottak (RASTALL et al., 2000). A laktofermentációt végző tejsavbaktériumok közül is kiemelkedően fontos szerepe van a *Lactobacillus* (*L.*) nemzetségnek, amelynek számos tagjáról már bebizonyították, hogy a fogyasztó számára jótékony egészségi hatással bírnak, azaz probiotikusak. Napjainkban, a fogyasztói tudatosság növekedésének és az egészséges életmód előretörésének köszönhetően megnőtt a kereslet azon termékek iránt, amelyek, az általános tápértéken felül, a fogyasztó egészségének megőrzését szolgáló tulajdonsággal rendelkeznek. Ilyen élelmiszerek például a probiotikus termékek.

Jóllehet a probiotikumok jótékony hatásait már sokan bizonyították és publikálták (AVONTS et al., 2004, KUSHARYATI et al., 2011, NUALKAEKUL & CHARALAMPOPOULOS, 2011), a probiotikus élelmiszerek területén tejtermékek dominálnak (HELLER, 2001, PERES et al., 2012), annak ellenére, hogy a fogyasztói igény a nem-tejalapú probiotikus termékek iránt növekszik (DE BELLIS et al., 2010). Ez nemcsak a probiotikus terméket fogyasztani szándékozók étrendjének változatosságát limitálja, de azok a fogyasztók sem élvezhetik a probiotikus élelmiszerek kedvező hatásait, akik egészségi vagy életviteli okokból kifolyólag nem fogyaszthatnak tejtermékeket. Ezért fontos lenne olyan termék kialakítása, amely ötvözi a tejsavasán fermentált növényi alapú élelmiszerek és a probiotikus mikroorganizmusok előnyeit.

A zöldségek és gyümölcsök ideális szubsztrátjai lehetnek egy fermentált terméknek, mivel fontos szerepet töltenek be az emberi táplálkozásban és már önmagukban is számos jótékony komponenst (ásványi anyagokat, vitaminokat, élelmi rostokat) tartalmaznak, miközben a tej allergén anyagaitól mentesek. Mindemellett a fogyasztók szorosán az egészséges táplálkozáshoz kapcsolják őket (PRADO et al., 2008, RIVERA-ESPINOZA & GALLARDO-NAVARRO, 2010, PEREIRA et al., 2011). Számos kutatás számol be starterkultúrák alkalmazásáról (HALÁSZ et al., 1999, LEROY & DE VUYST, 2004), azonban arra, hogy bizonyítottan probiotikus törzseket alkalmazzanak a fermentáció elvégzéséhez vagy a jó fermentációs tulajdonságú törzsek probiotikus tulajdonságát vizsgálják, eddig csak kevesen vállalkoztak (SÁNCHEZ et al., 2012). Jelenleg a piacon nem található olyan nem-tejalapú, tejsavasán fermentált, probiotikus baktérium(ka)t tartalmazó élelmiszeripari termék, amely beilleszthető lenne a mindennapi étkezésbe, ezért egy ilyen jellegű, zöldség és/vagy gyümölcs alapú termék kifejlesztése hiánypótló lehet, amely új szegmenst alapozhat meg a probiotikus

termékek piacán. Ezek alapján fogalmazódott meg bennem, hogy érdemes lenne probiotikus törzsek szelekcióját elvégezni különböző növényi nyersanyagokon, starterkultúráként történő alkalmazhatóságuk szempontjából.

Célkitűzések

A kutatás folyamán vizsgálni és szelektálni kívántam probiotikus (és nem-probiotikus) *Lactobacillus* törzseket, melyek segítségével céltom olyan újszerű, tejsavasan fermentált, növényi alapú termék előállítására, amely az egészségi hatásai által nagy hozzáadott értéket képvisel. Ennek érdekében:

- Céltomul tűztem ki egy népszerű, nagy mennyiségben fogyasztott gyümölcsle probiotikus törzssel történő fermentálhatóságának és funkcionális termék kialakításának vizsgálatát. Mivel a narancslé a legszélesebb körben ismert és fogyasztott gyümölcsle a világon, termékfejlesztési kutatásomat érdemesnek tartom ezzel a gyümölcslével kezdeni.
- A leginkább alkalmas nyersanyag kiválasztása és a széles termékpaletta létrehozása érdekében több, elsősorban hazai termesztésű gyümölcsökön és zöldségeken alapuló levek probiotikus törzssel történő fermentálhatóságának és funkcionális termék kialakíthatóságának vizsgálata is céljaim között szerepel.
- A megfelelő törzsszelekció, a törzsek fermentációban való alkalmazhatósága érdekében a *Lactobacillus*-ok tulajdonságainak (szaporodás), valamint a *Lactobacillus* törzsek termékre kifejtett hatásának (pH, titrálható savtartalom, összes oldott szárazanyag-tartalom, összes polifenol tartalom, antioxidáns és gyökfogó kapacitás) vizsgálatát is elvégzem, ugyanis a nyersanyagban elszaporodó tejsavbaktériumok anyagcsere-termékeik révén növelhetik a bioaktív komponensek jelenlétét.
- A probiotikus baktériumot tartalmazó termékfejlesztés során elsősorban arra törekszem, hogy olyan módszert tudjak kialakítani, amely minél nagyobb számú élőflóra létrejöttét és a tárolás alatti megőrzését teszi lehetővé, mivel egészségi hatásukat többnyire csak az élő, aktív sejtek és csak bizonyos koncentráció felett fejtik ki. A tárolási vizsgálatok a probiotikus kultúrák életképességének és a termék hasznos komponenseiben bekövetkező változások meghatározása céljából történnek.
- A saját törzskollekció létrehozása céljából a törzsgyűjteményekből származó és starterkultúrák forgalmazóitól beszerzett törzsek alkalmazásán felül tejsavasan fermentált termékekből izolálok *Lactobacillus*-okat starterkultúráként történő alkalmazhatóságuk vizsgálata érdekében, a jobb technológiai és funkcionális tulajdonságokkal rendelkező erjesztett termékek előállításának reményében.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Fermentáció történelmi áttekintése

Az erjesztés egy biotechnológiai folyamat, amelyet hagyományosan az élelmiszerek tartósításának eszközeként alkalmaznak (OJHA & TIWARI, 2016). A mikroorganizmusok segítségével történő erjesztések az élelmiszer-tartósítás legősibb eljárásai közé tartoznak és ma is az élelmiszer-feldolgozás egyik meghatározó eleme. A kenyér, sör, bor, sajt és joghurt előállítása az emberi kultúrák kezdetéig visszavezethető. A tartósítási módszer legkorábbi, mintegy 8000 éves feljegyzései a Tigris és az Eufrátesz folyók által közrefogott területről származik, ahol a technológiát a sajtkészítésnél alkalmazták először. Később, i.e. 4000-2000 között fejlesztették ki az egyiptomiak és sumérok az alkoholos fermentációt (bor- és sörkészítés). A fermentációt ugyan évezredek óta használják az élelmiszerek és italok tartósítási módszereként, a mikroorganizmusok ebben játszott szerepét csak a közelmúltban ismerték fel. A 19. század közepén két esemény jelentős hatással volt az élelmiszer-erjesztés módjára és a folyamat megértésére. Az ipari forradalomnak köszönhetően a városokban megnőtt a populáció, aminek eredményeképp a tradicionális módszer nem tudta kiszolgálni az igényeket. A termékek nagy mennyiségben történő előállításához a gyártási folyamat iparosítására volt szükség. Ugyanakkor az 1850-es évektől a mikrobiológia felvirágzása eredményezte a fermentáció biológiai alapjainak megértését. 1861-ben, a pasztörizálás kifejlesztésekor nyert értelmet a mikroorganizmusok fermentációban játszott szerepe (CAPLICE & FITZGERALD, 1999, ROSS et al., 2002). A fermentációt (amely szó a latin „*fervere*” szóból származik, melynek jelentése „forral”) Louis Pasteur fogalmazta meg először, mint „*La vie sans l'air*”, vagyis élet levegő nélkül (BOURDICHON et al., 2012).

Kezdetekben a fermentált élelmiszerek előállítása spontán fermentációval történt, amely a nyersanyagon jelen lévő természetes mikroflóra tevékenysége révén jött létre, így a termék minősége a nyersanyag mikrobiológiai változatosságától függött. Számos erjesztett élelmiszer, de különösen a tejalapú termékek esetében a fermentációért felelős mikroorganizmusok jellemzése a 19. század vége felé a starterkultúrák alkalmazásához vezetett, amelyeket nagy mennyiségben lehet termelni a fermentált termékek gyártása érdekében. A fermentált élelmiszerek előállításánál áttörést jelentett a szelektált törzsek (starterkultúrák) alkalmazása, amelyek segítségével szabályozott és ellenőrzött fermentációs folyamat valósulhat meg, egységes minőségű végterméket eredményezve (CAPLICE & FITZGERALD, 1999). A jellegzetes fiziológiai és metabolikus tulajdonságokkal rendelkező törzseket természetes környezetből vagy fermentált termékekből izolálták (LEROY & DE VUYST, 2004). Ez nagyléptékű fejlődéshez vezetett a fermentált élelmiszerek és alkoholos italok kereskedelmi gyártásához legszélesebb körben alkalmazott mikroorganizmusokkal kapcsolatban: az élesztőt a sör, a bor és a szeszes italok előállításához, a tejsavbaktériumokat (LAB) különféle tejtermékek, zöldségek és húsok fermentálásához alkalmazzák. Mindegyik esetben az élelmiszer vagy ital alapanyaga biztosítja a szubsztrátumokat számos olyan mikrobiális metabolit képződéséhez, amelyek hozzájárulnak a termék eltarthatósági idejének

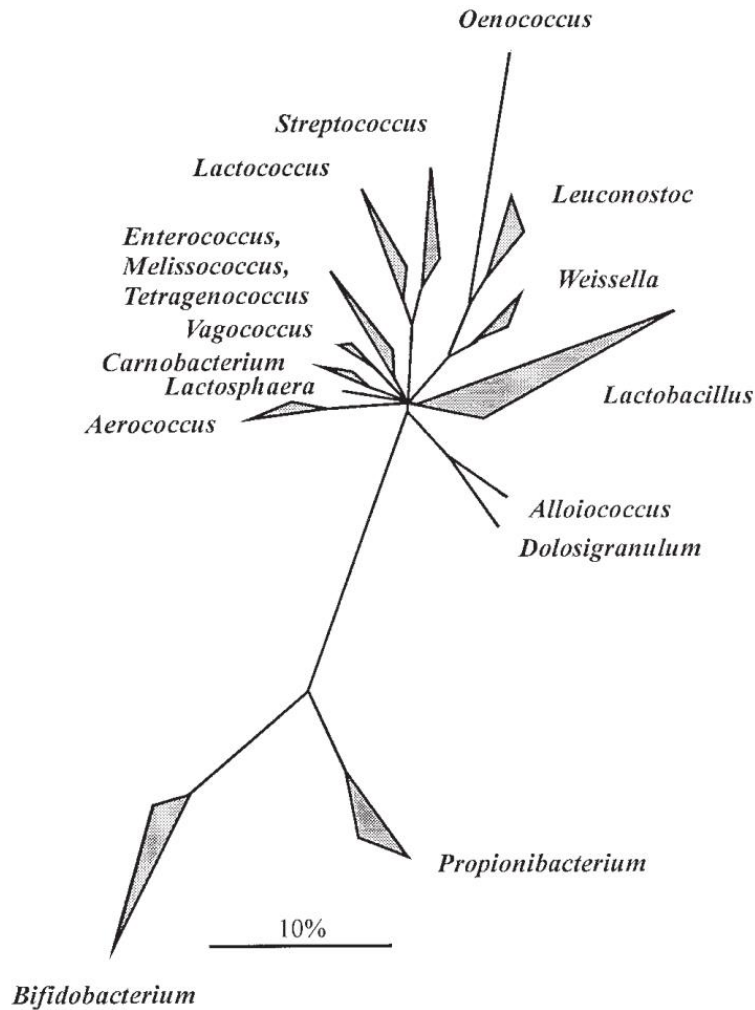
meghosszabbításához és minőségéhez (ROSS et al., 2002). Az 1. táblázatban példaként néhány fermentált terméket, valamint az azok előállításához szükséges mikroorganizmusokat és nyersanyagokat tüntettem fel.

1. táblázat: Fermentált termékek (ROSS et al., 2002, ZHENG et al., 2020)

Termék	Mikroorganizmus	Nyersanyag
Bor, sör	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , LAB	Szőlő, gabona, komló
Kenyér	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , LAB	Búza, rozs, gabona
Cheddar sajt	<i>Lactococcus (cremoris, lactis)</i> , <i>Leuconostoc</i>	Tej
Svájci sajt	<i>Lactobacillus (delbrueckii, bulgaricus, helveticus)</i>	Tej
Penészes és rúzsflórás sajt	<i>Carnobacterium piscicola</i> , <i>Brevibacterium linens</i>	Tej
Joghurt	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Tej
Kefir	<i>Lactococcus</i> , élesztő, <i>Lentilactobacillus kefir</i>	Tej
Fermentált húsok	<i>Pediococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , LAB	Sertés, marha
Savanyú káposzta	<i>Lactococcus lactis</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Levilactobacillus brevis</i> , <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>L. sakei</i>)	Káposzta
Szójaszós	<i>Aspergillus oryzae/soyae</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	Szójabab, búza
Zöldség	<i>Enterococcus (mundtii, faecium)</i> , <i>Lactococcus (cremoris, lactis)</i> , <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> , <i>Lacticaseibacillus casei</i>	Zöldség
Hal	<i>Carnobacterium (piscicola, divergens)</i>	Hal

2.2. Tejsavbaktériumok

A tejsavbaktérium, mint fogalom, nem rendszertani kategória, hanem közös anyagcsere- és élettani sajátosságokkal rendelkező baktériumcsoportok gyűjtőneve. A hagyományos rendszertani csoportosítással nem teljes mértékben egyezik meg a jelenlegi molekuláris filogenetikai osztályozás, ami új nemzetségek létrehozásával járt. A tejsavbaktériumokhoz tartozó nemzetségek 16S rRNS szekvencián alapuló konszenzus fáját az 1. ábra mutatja. A tejsavas fermentáció a tejsavbaktériumok jellemző anyagcsere-folyamata, mivel nincs működőképes teljes citromsavkörük, hemhez kötött elektrontranszport rendszerük és citokrómjuk. A tejsavbaktériumok a Gram-pozitív baktériumok Firmicutes törzsébe tartoznak, alakjuk pálcika vagy kokkus. Közös jellemzőjük, hogy oxidáz és kataláz negatívak. Kivételek azonban természetesen itt is előfordulnak, egyes fajok ugyanis képesek katalázt vagy citokrómokat képezni hematint vagy rokon vegyületet tartalmazó táptalajon (HOLZAPFEL et al., 2001). Jóllehet anaerobok, de az oxigén jelenlétét is elviselik, mint obligát erjesztők, úgynevezett aerotoleráns anaerob baktériumok.



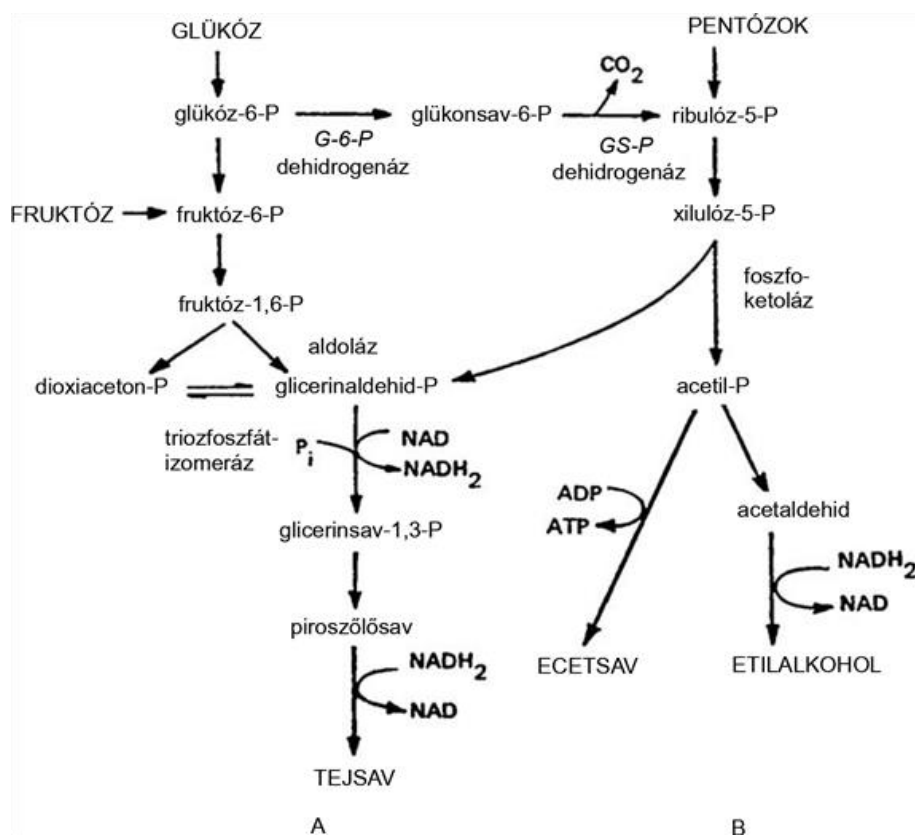
1. ábra: 16S rRNS szekvenciák összehasonlító elemzésén alapuló konszenzus fa (HOLZAPFEL et al., 2001)

Hőmérséklet igényük szerint megkülönböztetünk mezofil és termofil tejsavbaktériumokat. A mezofil tejsavbaktériumok – amelyeknek a sajtok, erjesztett zöldségek, hústermékek előállításában van nagy jelentőségük – szaporodási optimuma 25 – 30 °C közötti (pl. egyes *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* fajok). Ezzel szemben a termofil tejsavbaktériumok szaporodási optimuma 37 – 42 °C között van (pl. *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*), ezeket a joghurt és egyes sajtok előállításánál használják (DEÁK, 2006).

2.2.1. Tejsavbaktériumok metabolizmusa

A tejsavbaktériumok tápanyagigénye igen összetett, saját szintézis hiányában különböző aminosavakra, vitaminokra és nukleotidokra van szükségük a szaporodáshoz. Emiatt elsősorban olyan élőhelyeken fordulnak elő, ahol nagy mennyiségű oldott szénhidrát, fehérjebomlási termékek és vitaminok vannak jelen, nevezetesen növényi és állati eredetű

anyagokon, erjesztett vagy romlott élelmiszerekben, emberi és állati szervezetek tápcsatornájában (WOOD & WARNER, 2003). Kizárólag glükózt és szervesen sókat tartalmazó, úgynevezett minimál táptalajon szaporodni nem képesek. Azok a fajok, amelyek sejtfalhoz kötött proteáz termelnek, képesek a fehérjét, mint nitrogénforrást lebontani. Energianyerésük kizárólag tejsavas erjedéssel történik, azonban mind aerob, mind anaerob körülmények között képesek a szénhidrátokat tejsavvá bontani. A tejsavbaktériumok lebontó anyagcseréjük alapján homofermentatív (homolaktikus) vagy heterofermentatív (heterolaktikus) csoportba tartoznak (2. ábra). A homofermentatív erjesztés a glikolízis szerint történik (A), a keletkező piruvát a laktát-dehidrogenáz enzim segítségével közvetlenül tejsavvá redukálódik. A glikolízist folytató sejtekben működik a fruktóz-difoszfát aldoláz, ami a fruktóz-1,6-difoszfátot glicerin-aldehid-3-foszfáttá alakítja át. Míg a heterofermentatív erjedés első szakasza a pentóz-foszfát utat követi (B), ugyanis a sejtekből hiányzik a glikolízis kulcsenzime. Foszfoketoláz enzime azonban a glükonsavból képződő pentózokat képes hasítani, ami egyrészt mindig gázképződéssel jár (CO₂), másrészt végtermékei vegyesek és fajok szerint változóak, köztük a tejsav, az ecetsav és az etanol különböző arányban keletkezhet.



2. ábra: Homo- (A) és a heterofermentatív (B) tejsavas erjedés (DEÁK, 2006)

Jóllehet a tejsavas erjedésnek kétféle mechanizmusa van, a tejsavbaktériumok erjesztési típusa háromféle lehet. Míg az obligát homofermentálók glükóz lebontása a glikolízis szerint történik, az obligát heterofermentálók ezt a pentóz-foszfát útvonalon végzik. Ugyanakkor vannak tejsavbaktériumok, amik a glükóz lebontása (glikolízis) során csak tejsavat képeznek,

ugyanakkor erjesztik a glükonsavat és a pentózokat is, vegyes összetételű erjedési termékeket eredményezve, ezeket a baktériumokat fakultatív heterofermentálóknak nevezzük. A legtöbb *Lactobacillus* faj és a *Lactococcus*, *Pediococcus* és *Streptococcus* fajok homofermentatívak, néhány *Lactobacillus* (pl. *L. brevis* és *L. fermentum*) és a *Leuconostoc* fajok heterofermentatív anyagcserét folytatnak, fakultatív heterofermentáló pedig például a *L. casei* (DEÁK, 2006). Az erjedés során képződő tejsav lecsökkenti a nyersanyag pH-ját, amit sok más baktérium nem tolerál, így a romlandó élelmiszerek eltarthatósága javítható. A kialakított termék minőségbiztosítása szempontjából kiemelten fontos szempont a starterkultúra gyors savanyító képessége, mivel a túl lassú vagy elégtelen mennyiségű savtermelés a káros és romlást okozó baktériumok szaporodásának kedvez. Jóllehet a hűtve tárolás során csökken a mikroorganizmusok metabolikus aktivitása, továbbra is képződhet sav.

2.2.2. Antimikrobiális komponensek

A fermentált élelmiszerek készítéséhez alkalmazott tejsavbaktériumok (*Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* és *Leuconostoc*) számos törzse mutat erőteljes antagonizmust más baktériumokkal, köztük akár saját nemzetségük tagjaival, valamint nem rokon, romlást okozó mikroorganizmusokkal és patogénekkal szemben is. A tejsavbaktériumok antimikrobás hatása elsősorban a szerves savak (SCHILLINGER & LÜCKE, 1989) és a hidrogén-peroxid (TAGG et al., 1976) termeléséből adódik, de a baktériumok által termelt bakteriocinnek is nagy szerepe van benne (KLAENHAMMER, 1988). Ennek köszönhetően egyes tejsavbaktériumok kiválóan alkalmazhatók az élelmiszeriparban az eltarthatóság növelése érdekében (SUN et al., 2019, MUHIALDIN, 2020a). Így, a tejsavbaktériumok által termelt bioaktív komponensek miatt, a laktofermentáció nagy potenciállal rendelkezik a friss zöldség- és gyümölcslevek minőségmegőrzése érdekében is (SWAIN et al, 2014).

2.2.2.1. Szerves savak

Az erjedés számos kis molekulatömegű szerves molekulát eredményez, melyek antimikrobiális aktivitást mutatnak. A leggyakoribbak a tejsav, az ecetsav és a propionsav. A homofermentáció során hexózból tejsav képződik, míg a heterofermentáció alatt tejsav és ecetsav (továbbá etanol és szén-dioxid) keletkezik. Azok a savak, amelyek vizes oldatban nem disszociálnak teljesen, a gyenge savak csoportjába tartoznak. A gyenge savak erősebb antimikrobás aktivitással rendelkeznek a kisebb pH tartományban, mint neutrális környezetben. Mivel a nem-disszociált molekula a gyenge sav toxikus formája, ezért az ecetsav bír nagyobb gátló hatással, mint a tejsav. Ugyanis pH 4-es közegben a tejsav 11%-a, míg az ecetsav 85%-a van nem-disszociált állapotban. A nem-disszociált molekula lipofil tulajdonságának köszönhetően képes átdiffundálni a sejtmembránon keresztül és a citoplazmában disszociálni (AXELSSON, 1998). Ezenfelül a képződő savak a termék pH-ját egészen a savas tartományig csökkentik, amit a tejsavbaktériumok többnyire jól tolerálnak, bizonyos, romlást okozó mikroorganizmusok, kórokozók azonban kevésbé viselnek el. A létrejövő savas pH pedig denaturáló hatással van a romlást okozó mikroorganizmusok sejtfelszíni enzimeire. A protonok

beáramlanak a citoplazmába, ami miatt a sejt belső pH-ja is lecsökken, ezzel károsodásokat okozva a fehérjék és a DNS szerkezetében, ezáltal a mikroorganizmusok anyagcsere folyamataiban (ÁSVÁNYI-MOLNÁR, 2009).

2.2.2.2. *Hidrogén-peroxid*

A tejsavbaktériumok oxigén jelenlétében képesek hidrogén-peroxidot (H_2O_2) termelni a flavoprotein tartalmú oxidázok, NADH (nikotinamid-adenin-dinukleotid) oxidázok és a szuperoxid dizmutáz aktivitásán keresztül. Mivel a tejsavbaktériumok kataláz negatívak, (hem forrás hiányában) nem képesek elbontani a H_2O_2 -ot, az felhalmozódhat és kifejtheti gátló hatását. Ez a gátló aktivitás nagymértékben függ a koncentrációjától és a környezeti paramétereiktől (pH és hőmérséklet). A H_2O_2 antimikrobiális hatását az eredményezheti, hogy a szulfhidril csoportokat oxidálja, ami miatt az enzimek denaturálódnak, továbbá a membrán lipidek erős oxidációjával növeli annak átjárhatóságát, míg a sejtbe jutva a fehérjékre fejt ki oxidációs hatást. Továbbá a szuperoxid és hidroxil szabad gyök prekursora lehet, amik képesek a DNS-t roncsolni (AXELSSON, 1998).

2.2.2.3. *Szén-dioxid*

A szén-dioxid (CO_2) elsősorban a hexózok heterofermentatív tejsavas erjedése során képződik, de más anyagcsere útvonalakon is képződhet a fermentáció során. Antimikrobás aktivitása egyrészt abban rejlik, hogy anaerob környezetet hoz létre, ami mérgező környezetet jelent az obligát aerob mikroorganizmusok számára. Másrészt a CO_2 képes a sejtmembránon kifejteni hatását, azzal kapcsolatba lépve zavart okozni annak áteresztőképességében, csökkenti a sejt belüli és kívüli pH-t (CAPLICE & FITZGERALD, 1999). Jóllehet a penészek és az oxidatív Gram-negatív baktériumok érzékenyek rá, a *Lactobacillus*-ok és néhány élesztő nagy toleranciát mutat a szén-dioxiddal szemben (AXELSSON, 1998).

2.2.2.4. *Diacetil*

A diacetil (bután-2,3-dion) a citrát metabolizmus terméke, ami a vaj és egyéb erjesztett tejtermékek aromájának és ízének kialakulásáért felelős. A Gram-negatív baktériumok, élesztők és penészgombák érzékenyebbek a diacetilre, mint a Gram-pozitív baktériumok. Gátló hatása vélhetően az arginin felhasználás megzavarásából ered, az arra érzékeny sejt arginin-kötő fehérjéivel kapcsolatba lépve akadályozza annak normális működését. A fermentált termékben azonban ritkán van jelen olyan mértékben, hogy jelentősen hozzájárulna az antimikrobás aktivitáshoz (CAPLICE & FITZGERALD, 1999).

2.2.2.5. *Etanol*

A heterofermentatív anyagcserét végző tejsavbaktériumok ekvimoláris mennyiségű tejsavat, szén-dioxidot és etanolt képeznek glükózból a pentóz-foszfát útvonalon keresztül. Az etanolnak köztudottan antimikrobás hatása van, ennek ellenére az élelmiszerekben termelt mennyiségük olyan kevés, hogy ez az antibiotikus hatás minimális (CAPLICE & FITZGERALD, 1999).

2.2.2.6. *Bakteriocinek*

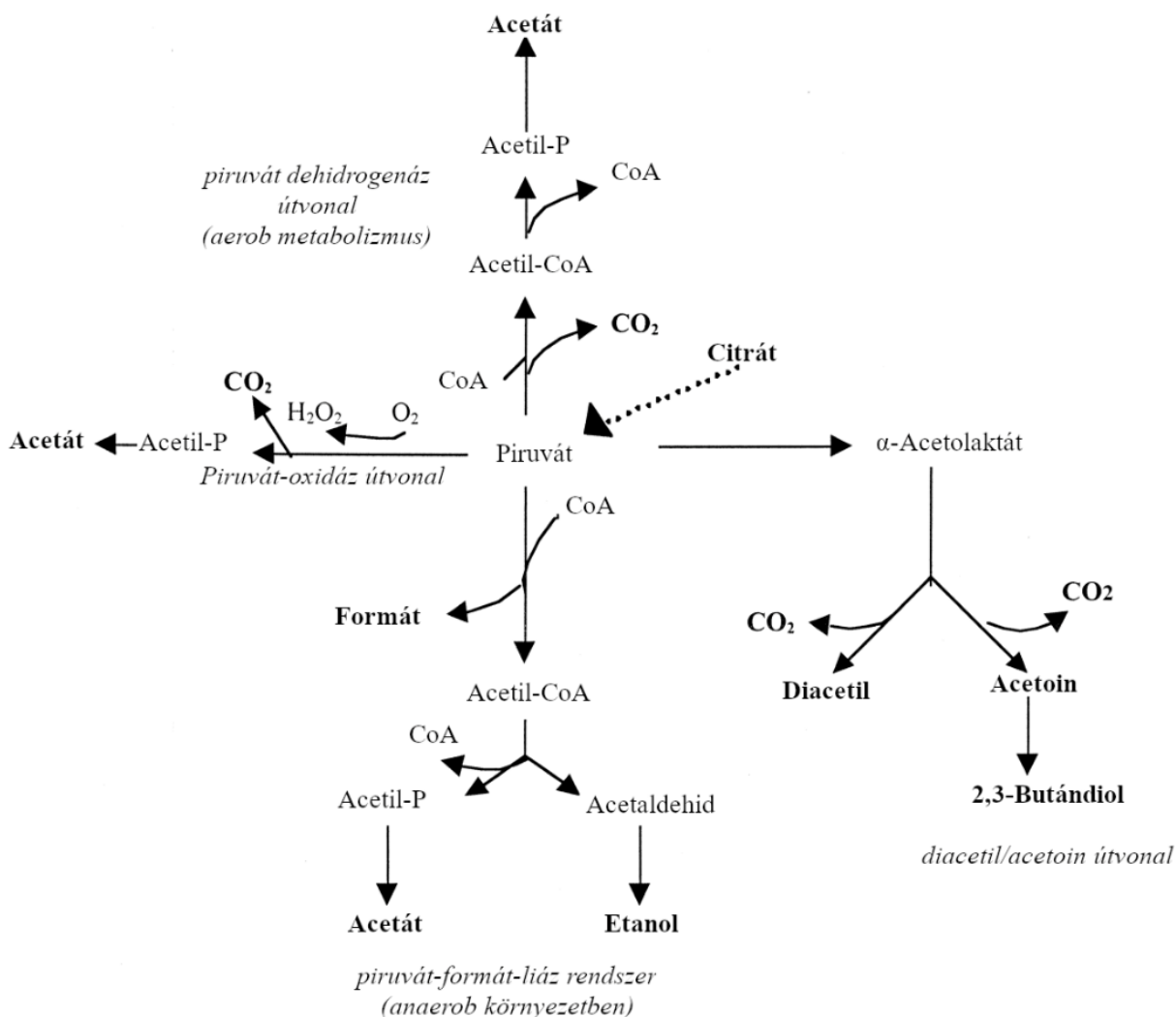
A bakteriocinek olyan riboszomálisan szintetizált és extracellulárisan kiválasztott, kis molekulatömegű peptidek vagy fehérjék (30-60 aminosav), amik baktericid vagy bakteriosztatikus hatással bírnak – hatásuk ellenére nem nevezik antibiotikumoknak, hogy ne keverjék össze a terápiás antibiotikumokkal, amik potenciális allergiás hatást válthatnak ki. A tejsavbaktériumok által termelt bakteriocinek élelmiszeripari szempontból kiváló minőségűek. Ez lehetővé teszi, hogy a nemkívánatos (romlást okozó és patogén) baktériumok elszaporodásának megelőzésére használják fel az erjesztett vagy nem-erjesztett élelmiszerekben (SETTANNI & CORSETTI, 2008). Az aktivitás tekintetében a bakteriocinek gátlása lehet széles körű, ebben az esetben a rokon fajokon kívül más nemzetségek fajaival szemben is képesek gátló hatást kifejteni. Egyes bakteriocinek baktérium-gátló tulajdonságát tekintve azonban szűkebb spektrummal rendelkeznek. A bakteriocin termelését kódoló és az immunitásért felelős gének általában egy operonban helyezkednek el (CHEN & HOOVER, 2003). A termelő sejtől kijutva a bakteriocinek célpontja a többi baktérium citoplazmatikus membránja, de a Gram-negatív baktériumok külső membránjának lipopoliszacharid tartalma miatt általában csak a Gram-pozitív baktériumokkal szemben hatásosak. A célsejt membránjához kapcsolódva pórusokat képeznek, ami csökkenti a membránpotenciált, megzavarja a sejt energiaellátását, növeli a membrán átjárhatóságát. A pórusokon keresztül a sejt kisebb molekulái kiáramlanak, míg a víz beáramlik, ami megnöveli az ozmotikus nyomást, sejtlízist eredményezve. A termelő sejtek védelmüket saját bakteriocinjeikkel szemben az immunitást biztosító fehérjéiken keresztül érik el. Ezek többnyire a sejtmembránhoz kapcsolódva fejtik ki védő hatásukat, megakadályozva a bakteriocinek pórusképződését a termelő sejten, illetve a membránba beékelődő bakteriocineket visszajuttatja a sejten kívülre (AXELSSON, 1998).

A törzsek többféle bakteriocint is képesek termelni, melyek közül az egyik legkorábban felfedezett és a mai napig az alkalmazás szempontjából legfontosabb a *Lactococcus lactis* által termelt nizin. A nizin egy 34 aminosav hosszúságú kationos peptid, ami egyedülálló pórusképző aktivitást mutat a baktériumok ellen. A membránon való pórusképzés első lépése a bakteriális sejtburkokhoz történő adszorpció, amit a szulfhidril csoportok inaktiválása követ (CHEN & HOOVER, 2003). PALMERI és munkatársai (1999) mesterséges lipidmembránok segítségével igazolták a *L. acidophilus* bakteriocinjei által okozott, a citoplazmatikus membránokban történő ionáteresztést vagy csatornaképződést. A pórusok létrehozása mellett ismert, hogy a nizin gátolja a sejtfa bioszintézisét a peptidoglikán termelés megszakításával. A nizin gátló aktivitása széles körű, a közeli rokon fajokon kívül a *Bacillus*, a *Clostridium*, a

Listeria és a *Staphylococcus* fajokkal szemben képes gátló hatást kifejteni. Mindazonáltal a Gram-negatív baktériumokra, élesztőkre és penészekre nincs hatással.

2.2.3. Tejsavbaktériumok aromaanyag termelése

A tejsavbaktériumok metabolizmusa során a piruvát főként tejsavvá redukálódik a laktát-dehidrogenáz enzimműködésnek köszönhetően. Azonban alacsony glükózsztint esetén alternatív útvonalakon képesek a piruvátot más vegyületekké katabolizálni: acetát, formát, etanol, acetaldehid, diacetil, acetoin és 2,3-butándiol szintésise is előfordulhat (3. ábra).



3. ábra: A tejsavbaktériumok fontos metabolikus termékeinek piruvátból történő képződésének általános sémája (CAPLICE & FITZGERALD, 1999)

Habár a tejsavas fermentáció végterméke a tejsav, aerob körülmények között a laktát-oxidáznak vagy a NAD^+ függő laktát-dehidrogenáznak köszönhetően egyes *Lactobacillus*-ok (pl. *L. curvatus*, *L. sakei*, *L. casei* és *L. plantarum*) piruvátot képeznek, ami tovább katabolizálódik. Anaerob körülmények között bizonyos tejsavbaktériumok (pl. *L. brevis*, *L. buchneri* és *L.*

plantarum) a tejsavat a NAD⁺ függő laktát-dehidrogenázon keresztül katabolizálják. Bizonyos tejsavbaktérium törzsek (pl. *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, egyes *Leuconostoc* és *Weissella* törzsek) különböző szerves savakat (almasav, borostyánkősav, tejsav, ecetsav), alkoholt vagy aromaanyagokat (acetoin, diacetyl butándiol) képeznek, mivel képesek a citromsav hasznosítására. Ezek a citrát-hasznosító, aroma-képző törzsek a kedvező érzékszervi tulajdonságú tejipari termékek kialakítása során kiemelten fontosak (LIU, 2003, PEDERSEN et al., 2012).

A starterkultúra szelekció során kulcsfontosságú lehet a biogén aminok képződése. A tejsavbaktériumok dekarboxiláz-aktivitása azonban általában kicsi, míg az enterobaktériumok és az enterokokkuszok gyakrabban képeznek biogén amint metabolizmusuk során. Élelmiszerekben elsősorban a sajtokban, fermentált hústermékekben, borban, ritkábban erjesztett zöldségekben is előfordulhat (DEÁK, 2006). A sajtok közül a lágy sajtokban, leggyakrabban a brie, a camambert és a kék sajtoknál éri el a kritikus értéket a biogén amin tartalom. A fehérjében gazdag élelmiszerek (hal, hús) és italok (bor, sör) is nagy mennyiségben tartalmazhatnak biogén aminokat, melyek közül is a legveszélyesebbek a hisztamin és a tiramin (SIMON-SARKADI et al., 2003). A sajtok hisztamin termelődését több tényező befolyásolja, például a starterkultúra, a sókoncentráció és a sajt pH-ja (MADEJSKA et al., 2018).

2.2.4. γ -aminovajsav (GABA) termelés

A γ -aminovajsav (GABA, az angol „gamma-aminobutyric acid” szóból) egy nem proteinogén aminosav, ami széles körben elterjedt a növény- és állatvilágban és a mikroorganizmusok között. Kulcsszerepet játszik az emlősökben, mint a központi idegrendszer fő gátló neurotranszmittere. Bár a GABA nem biztos, hogy képes átjutni az emberi vér-agy gáton, mint élelmiszer-összetevő a fogyasztóra kifejtett két fő hatása a vérnyomáscsökkentés és antidepresszáns (CATALDO et al., 2020). A vérnyomás szabályozásán és nyugtató hatásán kívül fontos szerepet játszik a vizelethajtásban és a cukorbetegség megelőzésében (SHEKH et al., 2016). Továbbá a GABA különböző utakon hozzájárul a bél-agy hálózathoz is, beleértve az enterális idegsejteket, az entero-endokrin sejteket és az immunsejteket. Ezen fiziológiai hatásoknak köszönhetően nagy figyelmet fordítanak az emberi egészségre jótékony hatással bíró GABA-val dúsított élelmiszerek kifejlesztésére, ugyanis a természetes állati és növényi eredetű élelmiszerek GABA-tartalma nagyon alacsony. Ennek köszönhetően nagy figyelmet kapnak a γ -aminovajsavat termelő mikroorganizmusok, különösen a tejsavbaktériumok, ugyanis a glutamát-dekarboxiláz enzim, ami a glutamátot GABA-vá alakítja, egyes *Lactobacillus* törzsekben megtalálható. A tejsavbaktériumokkal erjesztett, GABA-gazdag ételek közé tartozik például a joghurt, a sajt, a kimchi és a kovász (DHAKAL et al., 2012). Megállapították, hogy a tejsavas erjesztett élelmiszerek, például a koreai kimchi és a savanyított zöldségek nagy GABA termelők élőhelyei lehetnek. Ezek a nagy mennyiségben GABA-t termelő mikroorganizmusok eliminálhatják az intracelluláris protonokat a glutamát dekarboxilezése során, hogy fenntartsák az intracelluláris pH homeosztázisát a savas körülmények között (WU & SHAH, 2016). A *Lactobacillus*-ok GABA termelését főként a pH

szabályozza, aminek nagy hatása van a fermentációs folyamatra. A glutamát dekarboxilezése általában kis pH értéken indukálódik, a maximális GABA termelés pH értéke azonban fajoként eltérő. DHAKAL és munkatársai (2012) például *L. plantarum* DSM 19463 törzs legnagyobb GABA termelését 6,00 pH érték mellett, míg a *L. paracasei* NFRI 7415 törzsét pH 5,00-nél mérték.

2.2.5. *Lactobacillus* nemzetség

A *Lactobacillus*-okat a tejsavbaktériumok legfajgazdagabb nemzetségeként tartják számon, mint nem spóráképző, Gram-pozitív, pálcá alakú baktériumok. Katabolitikus folyamataik elsődleges végterméke a tejsav és kimondottan kedvelik is az enyhén savas környezetet. A konszenzus fa (1. ábra) alapján a *Lactobacillus* nemzetség filogenetikailag külön ágat alkot.

Rendszertani besorolásuk:

Ország: Baktériumok (Bacteria)

Törzs: Firmicutes

Osztály: Bacilli

Rend: Lactobacillales

Család: Lactobacillaceae

Nemzetség: *Lactobacillus*

A *Lactobacillus*-ok genetikai heterogenitására utal a különböző fajok széles G+C tartalma. Míg általánosan az egy nemzetségbe tartozó törzsek G+C mol% összetétele közötti különbség nem haladhatja meg a 10 %-ot, addig a *Lactobacillus*-ok DNS-ében a G+C összetétel 33-55 mol% között alakul (SCHLEIFER & LUDWIG, 1995). A molekuláris bélyegek alapján kialakítható filogenetikai csoportok és az erjesztési módok közt átfedéseket lehet felfedezni. Filogenetikailag nyolc csoportot különítünk el (2. táblázat), amiket egy-egy jellemző fajról neveztek el (DEÁK, 2005).

A *Lactobacillus* nemzetség tagjai számos helyen előfordulnak, a *L. casei* és *L. paracasei* fellelhető a silózott takarmányban, az állatok és az ember emésztőcsatornájában. Becslések szerint a humán vékonybél (patkóbél) baktériumsejtjeinek 6%-át *Lactobacillus*-ok teszik ki (HEENEY et al., 2018). A bőr és vagina élőflórájából is izoláltak *Lactobacillus* törzseket, de a szájban is találunk a nemzetséghez tartozó fajokat, amik a fogszuvasodásért tehető felelőssé (HASSAN et al., 2017). A *L. fermentum* törzset zöldeégekről izolálták, de előfordulnak még nyers tejben és az állati emésztőtraktusban is (POT, 2008, GIRAFFA et al., 2010).

2. táblázat: *Lactobacillus*-ok filogenetikai csoportjai és erjesztési módjai (DEÁK, 2005)

Filogenetikai csoport	Egyéb faj példa	Erjesztési mód szerinti fajok száma		
		Homo	Fakultatív	Hetero
<i>L. buchneri</i>	<i>fructivorans, hilgardii, lindneri</i>	0	1	11
<i>L. casei</i>	<i>rhamnosus, sharpeae, paracasei</i>	3	4	0
<i>L. delbrueckii</i>	<i>acidophilus, crispatus, helveticus</i>	14	5	0
<i>L. plantarum</i>	<i>alimentarius, farciminis, pentosus</i>	1	7	2
<i>L. reuteri</i>	<i>fermentum, vaginalis</i>	0	0	12
<i>L. sakei</i>	<i>curvatus, graminis</i>	0	4	0
<i>L. salivarius</i>	<i>mali, murinus, agilis</i>	7	5	0
<i>L. coryniformis</i>	<i>brevis, bifermentans</i>	0	3	1

A zöldségek tejsavas fermentációja, a *Lactobacillus*-ok ebben betöltött szerepe már régóta kutatott, jól leírt folyamat például savanyú káposzta (HALÁSZ et al., 1999, LEROY & DE VUYST, 2004), uborka (MUSMADE & DESAI, 1998, GUIZANI, 2011), cékla (BARÁTH et al., 2004, YOON et al., 2004a), olajbogyó (LEAL-SÁNCHEZ et al., 2003, RANDAZZO et al., 2004) és kimchi (RHEE et al., 2011) esetén. A *Lactobacillus* nemzetség számos tagja az élelmiszerek élvezeti értékei és eltarthatóságának növelése mellett bizonyítottan jótékony egészségi hatással is van a fogyasztók szervezetére. Az egyik legjobban dokumentált probiotikus törzs a *L. rhamnosus* GG, melyről számos klinikai tanulmány támasztja alá, hogy a *Helicobacter pylori* fertőzéssel kezelt betegeknél alkalmazott antibiotikumos kezelés során fellépő hasmenés megelőzésére alkalmazható (CHAN et al., 2020).

2.3. Tejsavas erjesztett élelmiszerek

A tejsavas fermentáció több ezer éves múltra tekint vissza, amely segítségével már a korai civilizációkban élelmiszereket állítottak elő, ahol az elsődleges szempont a nyersanyag tartósítása és emészthetőségének növelése volt. Az ősi eredet ellenére ezek a mai napig a legnagyobb mennyiségben és a legszélesebb termékválasztékban készülő erjesztett élelmiszerek, amelyek közt megtalálhatók olyan mindennapi táplálékaink, mint a fermentált tej, hús, zöldség- és gabonafélék. Ezen élelmiszereknek jelenleg is nagy jelentőséget tulajdoníthatunk (a fejlett élelmiszer-technológiájú országokban is), hiszen a tartósításon kívül sok más előnnyel is rendelkeznek, ugyanis a fermentációnak számos jótékony hatása van az élelmiszerek és alapanyagok tekintetében is, melyek közül néhányat példaként említenék:

- Kedvező érzékszervi tulajdonságok és állomány kialakítása.
- A természetes toxinok és antinutritív anyagok lebomlása. Az erjesztés során a mikroorganizmusok számos antinutritív anyag lebontására képesek (pl. fitát, lektinek).
- Megnö az emészthetőség. A fermentációt végző mikroorganizmusok az élelmiszerek makromolekuláit részben lebontják, így javítva az emészthetőséget. A laktóz intoleranciás személyek például nagyobb toleranciát mutatnak az erjesztett

tejtermékekkel szemben, ugyanis a tej laktóz tartalmát a tejsavbaktériumok anyagcseréjük révén nagyrészt tejsavvá erjesztik.

- Tápérték növekedés, minőségi javulás. A mikroorganizmusok – a táplálkozási szempontból előnyös – anyagcsere termékeik révén növelik a termék beltartalmi értékét (pl. L(+) tejsav, aminosavak, szerves savak, vitaminok képződése).

- Új típusú termékek előállítása, az élelmiszerek választékának növelése (DEÁK, 2006).

A tejsavas fermentáció által kialakított ételek jótékony egészségi hatásai már az ókor óta ismertek, Metchnikoff óta pedig tudományosan is bizonyítottak (RASTALL et al., 2000). Szerencsére egyre ismertebbé válik, hogy az egészséges és változatos bélmikrobiota jelenléte fontos a normális bélműködés eléréséhez, fenntartásához. Köztudott, hogy székrekedésben szenvedő betegek tünetei az erjesztett ételek, például a joghurt, a kimchi és a savanyú káposzta fogyasztásával enyhíthetők. A *Lactobacillus* és a *Bifidobacterium* fajokról különösen ismeretes, hogy rövid láncú zsírsavak (SCFA) előállításával támogatja az emésztés egészséges működését (CHEN et al., 2019). A tejsavas erjesztett élelmiszerek esetében a következő nemzetségekhez tartozó fajok játszzák a kulcsszerepet: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Oenococcus* és *Carnobacterium* (DEÁK, 2006).

2.3.1. Tejalapú fermentált élelmiszerek

Az erjesztett tejtermékek világszerte széles körben fogyasztott élelmiszerek, amiket a tej erjesztésével nyernek az arra alkalmas és ártalmatlan mikroorganizmusok révén (GARCÍA-BURGOS et al., 2020). A legnépszerűbb fermentált tejtermékek a sajtok, a joghurt és a kefir, de tejsavas erjesztés szerepel a vaj, a tejföl, a tejszín és más tejtermékek előállításában is. A kefir történelme igen régre nyúlik vissza, a Közép-Ázsiába vándorolt törökök fedezték fel 5000 évvel ezelőtt (ALTUNTAS & HAPOGLU, 2019).

Az aromaképző tejsavbaktériumoknak különleges szerep jut a tejtermékek fermentációjában, ugyanis a nem-szénhidrát jellegű komponenseket aromaanyagokká alakítják át (pl. *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* törzs a citrátot piruváttá, majd diacetillé képes átalakítani). Az optimálisnál hosszabb erjesztés azonban az aromaképzés csökkenésével jár, mivel a citrát elfogyása után a diacetil tovább redukálódik acetoinná. Fontos megemlíteni a nyálkaképző tejsavbaktériumokat, amik a joghurt és a kefir állagának kialakításában játszanak szerepet. A közegben felszaporodva jellegzetes nyálkás konzisztenciát alakítanak ki az extracelluláris poliszacharidok termelése által (DEÁK, 2006). A kemény sajtok (pl. Ementáli, Comté) starterkultúrájaként a *Lactobacillus*-ok a legismeretesebbek (*L. helveticus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*). A *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a joghurtok előállításához szükséges baktériumok egyike, míg a *L. kefir* elengedhetetlen a kaukázusi kefir előállításához (COEURET et al., 2003).

2.3.2. Nem-tejalapú fermentált élelmiszerek

2.3.2.1. *Fermentált húskészítmények*

Többféle fermentált húskészítmény ismert, de a legjelentősebbek, amelyeket a legmagyobb mennyiségben állítanak elő a világon, a szalámi- és kolbászfélék. Már az ősi kultúrákban is alkalmazták az eljárást az igen romlandó húsok eltarthatóságának növelése érdekében. Ezen nem hőkezelt termékek mikrobiológiai stabilitását és eltarthatóságát a fermentáció (keletkező tejsav, pH csökkenés) és egyéb kezelések (nitrátos vagy nitrites pácsó) biztosítják. Az érlelés során a termékben jelentősen lecsökken a víztartalom, amely körülmények között a romlást okozó baktériumok már nem képesek szaporodni, az így készült termékek mikrobiológiai szempontból biztonságosak, hosszú ideig eltarthatók – akár hűtés nélkül is. Az erjesztett húskészítmények nemcsak érzékszervi tulajdonságaik és tápanyagtartalmuk miatt, hanem stabilitási és kényelmi szempontból is fontosak. Aromájuk egyedülálló, a nitrit és a nitrát jelenléte azonban elengedhetetlen a pácolt aroma kialakulásához (FLORES et al., 2021). Az eltarthatóság lényeges megnövekedése mellett rendkívül előnyös tulajdonságuk, hogy a fermentáció következtében megnő az alapanyag tápértéke, fehérjében gazdagabb lesz, a hús fehérjetartalma könnyebben emészthetővé válik (DEÁK, 2006).

2.3.2.2. *Fermentált zöldségek*

A zöldségek tejsavas fermentációjáról készült legkorábbi feljegyzések i.e. 6000-ig nyúlnak vissza, az így készült ételek minden kontinensen máig is az étrend szerves részét képezik. A modern tárolási módszerek elterjedése előtt az erjesztett zöldségeknek a zöldségfélékkel való ellátásban, így az egészséges táplálkozásban volt kiemelkedő szerepük. A zöldségek teszik ki az emberi táplálkozás jelentős részét, amik természetes antioxidánsok, mint például karotinoidok, flavonoidok és más fenolos vegyületek, vitaminok, valamint ásványi anyagok és élelmi rostok kiváló forrása. A fermentált zöldségek mindezek mellett glükoszínolát vegyületek hidrolízise során keletkező termékeket is tartalmaznak, amik antikarcinogén hatásúak (RAY & PANDA, 2007). Mint Korea elsődleges élelmiszere, tanulmányozták a kimchi egészségügyi előnyeit és tápanyag-összetételét. Előnyei közé sorolták a testsúly, a koleszterin, a vérszír és a tumor csökkenését is (PARK et al., 2014). KLEWICKA és munkatársai (2015) laboratóriumi úton előállított fermentált céklalé hatékonyságáról végeztek vizsgálatot patkányok bélflórájának javítása érdekében. A kínai Chongqing Orvostudományi Egyetemen a *Bifidobacterium* által fermentált vegyes gyümölcs- és zöldséglé hatásait tanulmányozták az egerek immunszabályozásának és fáradtságcsökkentő hatásának vonatkozásában. Az eredmények megerősítették, hogy ezek az erjesztett gyümölcs- és zöldséglevelek jótékony hatással vannak a patkányok és egerek egészségére, annak javítására (CHU et al., 2009, GUAN et al., 2010).

A fermentációt a legegyszerűbb és legértékesebb „bioprocessz technológiának” tartják, amivel megtartható és/vagy megnövelhető a zöldségek tápértéke, biztonsága, érzékszervi tulajdonsága és eltarthatósági ideje (RAY et al., 2014). Olyan zöldségeket, mint például a káposzta, az uborka, a retek, a sárgarépa, a zöld paradicsom és a zöld paprika, nagy

mennyiségben fermentálnak, ezek könnyen beilleszthetők az emberi étkezésbe (SWAIN & RAY, 2016). Sok esetben a fermentált zöldségek előállítása spontán fermentációval történik, starterkultúra alkalmazásával azonban a termék állandó minősége biztosítható lenne. Az ipar a starterkultúrák használatát és szelekcióját alternatívának tekinti, az elmúlt években pedig ezen kultúrák iránti igény egyre inkább növekszik (LEE et al., 2015). A baktériumok növekedését és aktivitását számos tényező befolyásolja a tejsavas fermentáció során. A hőmérséklet szabályozza a nyersanyagon jelen lévő mikroflóra anyagcseréjét és szaporodását, a biogén aminok képződését (MACROBAL et al., 2012). Továbbá a pH kritikus tényező az erjesztett zöldségek aroma és íz kialakításában (PADONOU et al., 2010).

Savanyú káposzta

A savanyú káposzta az egyik legnépszerűbb fermentált zöldség. A káposzta spontán erjedése során a friss káposzta természetes mikroflórája, a heterofermentatív tejsavbaktériumok ecetsavat és tejsavat termelnek, amit később a savat jobban toleráló homofermentatív fajok kezdtek helyettesíteni (pl. *L. plantarum*). A túlzottan nagyszámú tejsavbaktérium jelenléte túl savas terméket eredményez, a fogyasztók pedig a kevésbé savas savanyú káposztát preferálják. Ebből kifolyólag az Európában gyártott savanyú káposzta nagy részét pasztörözik, amikor a pH értéke 3,8 – 4,1 közé kerül (PEÑAS et al., 2010).

Savanyú uborka

Az uborka is igen népszerű, vezető helyen szerepel a világon a savanyúságok előállításához használt zöldségek között. Az uborka fermentációja szempontjából legismertebb starterkultúrák közé tartoznak fakultatív homofermentatív tejsavbaktériumok (*Pediococcus* sp.) és heterofermentatív tejsavbaktériumok (*L. plantarum* és *L. pentosus*) is, amik azoknál az uborka erjedéseknél valószínűsíthetőek, melyek során túlnyomórészt tejsav és szén-dioxid képződik (BEHERA et al., 2020). A technológia során az uborkát 5-8%-ban nátrium-kloridot, kálium-szorbátot és ecetet tartalmazó lébe helyezik és nyitott tartályokban tartják. Így a sóoldat felülete ki van téve a napfény ultraibolya sugárzásának, ami segít a penészek és élesztők növekedését gátolni. Az erjedést követően a nátrium-klorid koncentrációját 14%-ra emelik, hogy megakadályozzák a romlást okozó mikroorganizmusok szaporodását (FLEMING et al., 1987).

Olajbogyó

Az étkezési olajbogyó az egyik legfontosabb hagyományosan erjesztett zöldség Európában a mediterrán térségben és a táp- és funkcionális értékének (polifenol, vitamin, ásványi anyag és zsírsav tartalmának) köszönhetően a fogyasztói igény egyre inkább növekszik iránta. A nemzetközi piacon három legfontosabb típusa a természetes fekete olajbogyó sós lében (görög stílusú), a spanyol stílusú zöld olajbogyó és a fekete oxidált olívabogyó, ami kaliforniai stílusúként is ismeretes (BLEVE et al., 2014). Az olajbogyó polifenol tartalmát az oleuropein

jelenléte jellemzi, amely az intenzív keserű ízért felelős. Ezt az erjedés során a mikroorganizmusok β -glükózidáz enzime glükózzá és aglikonná redukálja, amiket viszont az észteráz tovább bont az erős antioxidáns hatású hidroxitirozolra és oleanolsavra. Ezért ezeknek a vegyületeknek a jelenlétét nagyban befolyásolja a mikrobiális összetétel, ami függ egyrészt a bogyó fajtájától, másrészt a technológiától. Általánosságban a tejsavbaktériumok és az élesztők vannak jelen, ezek dominálnak a fermentáció során (VACCALLUZZO et al., 2020). A fermentált zöld olajbogyóról számos *Lactobacillus* törzset izoláltak (többek között *L. brevis* és *L. plantarum* törzseket), amik probiotikus és antifungális tulajdonságokat mutattak (ABOULOIFA et al., 2020a, ABOULOIFA et al., 2020b).

Kimchi

A kimchi egy hagyományos koreai erjesztett étel, ami számos különböző zöldségből (pl. retek, uborka, kínai káposzta) készül az azokon jelen lévő mikroorganizmusok tejsavas fermentációs tevékenysége által (RAY et al., 2014, LEE et al., 2015). A tejsavas erjedés itt kisebb hőmérsékleten történik, biztosítva a megfelelő érést és az erős savas ízvilágot. A kimchiből való izolálás során a *Lactiplantibacillus plantarum* és *Leuconostoc mesenteroides* bizonyult domináns fajnak. Az egészségre káros hatású biogén aminok szempontjából a kimchi kiváló választás, ugyanis a kimchi összetevői nem tartalmaznak nagy mennyiségben biogén amin prekursorokat, így a fermentáció során nem képződik számottevő biogén amin (BEHERA et al., 2021).

Fermentált gyökérezőldségek

A sárgarépát és a petrezselyemgyökeret, külön vagy vegyesen, a világ számos területen (pl. a Közel-Keleten és Ázsiában) savanyítják. Ezek a termékek elsősorban házi eljárással készültek, a későbbiekben az irányított, adaptált fermentáció azonban sokat javított a savanyúság minőségén. Kiváló minőségű erjesztett sárgarépát sikerült például előállítani ellenőrzött fermentációval, *L. plantarum*, *L. brevis*, *Pediococcus cerevisiae* és *Leuconostoc mesenteroides* vegyes kultúra felhasználásával (GHNIMI & GUIZANI, 2018).

2.4. Probiotikumok

2.4.1. Probiotikumok jellemzése

A probiotikus elnevezés a görög „*pro bios*” („az életért”) kifejezésből származik. A probiotikum kifejezés hosszú utat tett meg a mai meghatározásáig. 1965-ös megfogalmazás szerint a probiotikumok olyan mikroorganizmusok által termelt anyagok, amelyek más mikroorganizmusok növekedését serkentik. 1974-ben már a bélrendszer működési egyensúlyához hozzájáruló szervezetekként és vegyületekként definiálták. 1989-ben kiegészítették ezt a definíciót: „A probiotikumok élő mikrobiális élelmiszer összetevők, melyek jótékony hatással vannak a gazdaszervezetre azáltal, hogy javítják a bél mikrobiális

egyensúlyát” (FULLER, 1989). A FAO/WHO (2002) mai meghatározása szerint azonban a probiotikumok olyan élő mikroorganizmusok, amelyek megfelelő mennyiségben fogyasztva jótékony hatással vannak a gazdaszervezet egészségére. A tejsavbaktériumokat a probiotikus baktériumok fő csoportjának tekintik, a legfontosabb nemzetségek a következők: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* és *Bifidobacterium* (BOTH et al., 2011). A legismertebb probiotikus törzseket a 3. táblázatban foglaltam össze.

3. táblázat: Legismertebb probiotikus fajok (SZAKÁLY, 2004)

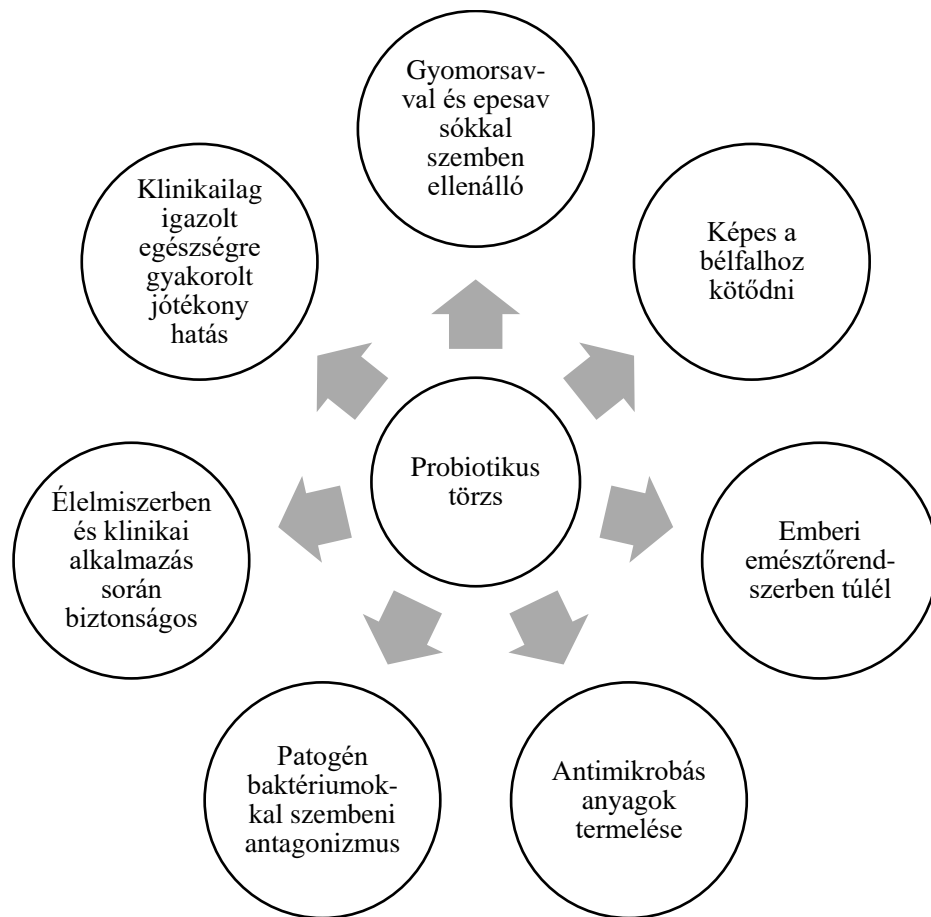
Nemzetség	Faj
<i>Streptococcus</i>	<i>S. thermophilus</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. acidophilus</i>
	<i>L. casei</i> Shirota
	<i>L. rhamnosus</i> GG
	<i>L. casei</i> Immunitas
	<i>L. paracasei</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. longum</i>
	<i>B. breve</i>
	<i>B. infantis</i>

2.4.2. Probiotikumok kritériumai

Ahhoz, hogy egy mikroorganizmust probiotikusnak lehessen nevezni, számos kritériumnak kell megfelelnie (4. ábra). A probiotikumokra vonatkozó kritériumokat funkcionális, biztonsági és technológiai szempontból egyaránt meg kell határozni.

2.4.2.1. Funkcionális tulajdonságok

Annak érdekében, hogy minél nagyobb számú, életképes mikroorganizmus érje el a vékonybél szakaszt, ellenállónak kell lenniük az emésztőenzimokkal, a gyomorsavval és az epesavval szemben. Fontos szerepe van a bélhámhoz tapadó és ott kolonizáló képességnek. A legtöbb baktérium sejtfelszínén adhezinekkal rendelkezik, amivel kötődni tud a bélhámsejtekhez. A bélnyálkahártyán való megtapadással lehetővé válik a törzs számára, hogy a mikrobiota részévé váljon, az intesztinális körülmények között szaporodjon és anyagcserét folytasson, aminek révén kölcsönhatás alakul ki a nyálkahártya felszínével és a GALT (gut associated lymphoid tissue) rendszerrel. Ezáltal a megtapadt probiotikus törzs képes befolyásolni az immunrendszert. Ehhez szorosan kötődve a probiotikum egyik kritériuma az immunrendszer védelmi funkciójának erősítése, továbbá a bélmikrobiota összetételére való hatása, lehetőség szerint termeljenek antimikrobiális anyagokat, vagyis a patogén baktériumokkal szemben mutatott antagonista hatás kiemelkedő jelentőséggel bír, ami történhet akár versengés útján is (SERVIN & COCONNIER, 2003). További kritérium az antigenotoxikus hatás, a funkcionális tulajdonságban a karcinogén anyagok képzéséért felelős enzimek termelésének visszaszorítása.



4. ábra: Probiotikus mikroorganizmusok szelektációs kritériumai (ARAÚJO et al., 2012)

2.4.2.2. Biztonság

A törzsek probiotikus tulajdonságait és metabolikus aktivitásukat *in vitro* vizsgálatokkal, állatkísérletekkel és klinikai vizsgálatokkal is igazolni kell. A közelmúltban preferálták, hogy az emberi fogyasztásra szánt törzsek humán eredetűek legyenek, ma már azonban ez nem feltétele annak, hogy egy törzset probiotikusnak lehessen nevezni. Biztonsági szempontból rendkívül fontos tényező, hogy a mikroorganizmus ne legyen összefüggésbe hozható betegségekkel, és immundeficiens szervezetben se viselkedjen patogénként. A probiotikumok között a *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsek preferenciájának egyik oka, hogy az általuk okozott fertőzések száma nagyon ritka. Emellett számos elvárásnak kell megfelelniük biztonsági szempontból, hogy a vékonybélben ne okozzanak D-tejsav acidózist, ugyanis az szénhidrát felszívódási zavarokat okozhat; ne legyen hialuronidáz és zselatináz aktivitásuk, amelyek az extracelluláris mátrix fehérjéket károsítják; ne fejtsenek ki túlzott nyálka lebontást; ne vagy csekély legyen a biogén amin termelésük; ne hozzanak létre másodlagos epe-savakat és ne hordozzanak átadható antibiotikum rezisztencia géneket. Legyenek viszont stabilak és a termék fogyaszthatósági idején belül tartalmazzák a megfelelő ($10^6 - 10^7$ telepképző egység (TKE)/ml) csíraszámot (NUALKA EKUL & CHARALAMPOPOULOS, 2011).

2.4.2.3. *Technológiai szempontok*

Ahhoz, hogy a probiotikus törzsek eljuthassanak a fogyasztókhoz, ipari körülmények között elő kell tudni állítani őket, a tárolás során túl kell élniük és meg kell őrizniük funkcionalitásukat a termékekben is. A technológiai szempontok közé sorolhatók azok az elvárások, amiket a gyártók fogalmaznak meg a kívánatos tulajdonságokkal szemben. Kulcsfontosságú tényező, hogy a mikroorganizmusok adott tápközegben megfelelően szaporodjanak és megőrizték életképességüket a gyártás és a tárolás folyamán is. Ne befolyásolják a termék érzékszervi tulajdonságait, a fogyasztó igényeit kielégítő érzékszervi tulajdonságot kölcsönözzenek a terméknek. A probiotikumok legyenek rezisztensek a baktériumokat fertőzni képes vírusokkal szemben, valamint mutassanak genetikai stabilitást az élelmiszer-feldolgozás körülményei között (OUWEHAND et al., 1999, SAARELA et al., 2000, SZAKÁLY, 2004, RODLER, 2005, BOTH, 2018).

2.4.3. *Probiotikumok egészségre gyakorolt hatása*

Számos kutatás beszámol az emberi egészség és bél-mikrobiom közötti komplex kapcsolatról. A bél mikrobiotájának összetételében történő (negatív) változás hozzájárulhat például az inzulinrezisztencia és a krónikus gyulladás kialakulásához, valamint olyan krónikus betegségekhez, mint a metabolikus szindróma, elhízás, cukorbetegség, sőt akár a rák is (GUAN et al., 2021). Az egészséghez hozzájáruló mikroorganizmusok bélflórában lévő száma azonban növelhető a probiotikumok étrendbe történő bevezetésével (ANDRADE et al., 2012). A *Lactobacillus*-ok fogyasztása képes visszaállítani a bél mikrobiális populációjának normális egyensúlyát, ezáltal befolyásolni a szervezet immunrendszerét. A *L. acidophilus*-t és *L. casei*-t tartalmazó élelmiszerek fogyasztásából származó egészségügyi előnyök jól dokumentáltak (SHAH, 2007). A probiotikus tulajdonsággal rendelkező mikroorganizmusok fogyasztása képes az immunrendszert stimulálni azáltal, hogy a bélmikrobiota aktivitását serkenteni. Az életképes probiotikumok bizonyítottan előnyös tulajdonságai közé tartoznak, hogy képesek enyhíteni a laktóz intolerancia tüneteit (HE et al., 2007) és elősegíteni a fertőzésekkel szembeni ellenálló képességet, hatékonyak a gastroenterális fertőzések elleni védelemben (HILL et al., 2014). Egyéb jótékony hatásai is ismertek, mint például a vastagbélrák kockázatának és a vércholeszterin szintjének csökkentése, valamint az atópiás dermatitisz megelőzése (NUALKAEKUL & CHARALAMPOPOULOS, 2011). A probiotikumok nagy lehetőséggel bírnak az emésztőrendszeri rendellenességek megelőző és terápiás alkalmazásában, azonban a probiotikus hatás hátterében álló mechanizmusok még nem teljesen tisztázottak (YAN et al., 2011).

2.4.3.1. *Humán bélflóra jellemzése és kialakulása*

Az emberi bélrendszer változatos és összetett mikrobiális közösséggel rendelkezik, ami kulcsszerepet játszik az emberi egészségben (ezt nevezzük „normál” bélflórának). A bélrendszerben előforduló mikroorganizmusok túlnyomó része obligát anaerob baktérium, de

előfordulnak fakultatív anaerob baktériumok, archaea és élesztő fajok is. Az obligát anaerobok legjellemzőbb nemzetségei a *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* és *Ruminococcus*. Míg a fakultatív anaeroboknál az *Escherichia*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Lactobacillus* és *Proteus* fajok fordulnak elő leggyakrabban (GONZÁLEZ-REGUEIRO et al., 2017). Azonban az élet folyamán a bélmikrobiota összetétele jelentősen változik. A gyomor-bélrendszer a magzatban steril, a baktériumok kolonizációja a születéskor kezdődik. Először a fakultatív anaerob baktériumok (*Escherichia coli* és a *Streptococcus*-ok) telepednek meg: a szülőcsatornában a szájon és a végbélnyíláson keresztül az anya hüvelyi, illetve bélbaktériumai jutnak a gyermek szervezetébe – ezért a császárral született gyermekek bélflórájában más nemzetség tagjai a jellemzők. Ezek a mikroorganizmusok számukra kedvező körülményeket alakítanak ki, ezáltal a környezet anaerobbá válik, helyt adva az anaerob tulajdonsággal rendelkező baktériumoknak is, melynek összetételét elsősorban a csecsemő táplálási módja határozza meg. Szoptatás esetén a bifidobaktériumok vannak túlsúlyban, ezzel szemben a tápszerrel táplált gyermekek bélmikrobiotája ennél jóval összetettebb, általánosságban a *Clostridium*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium* és *Streptococcus* nemzetség tagjai fordulnak elő (FRANKS et al., 1998, PERDIGÓN et al., 2003). Körülbelül két éves korra alakul ki a normál bélflóra, ami azonban az életkor előrehaladtával változáson megy keresztül. Ráadásul több tényezőtől is függ: más lehet különböző földrajzi területeken, de egy populáción belül egyedenként is eltérhet a genetikától, viselkedési formáktól, szokásoktól függően. A különböző diéták, testmozgás, a stressz, továbbá az életkor is nagyban befolyásolja emésztőrendszerünk baktériumösszetételét. A csecsemőkorban végzett vizsgálatok által újabban bizonyítékot nyert, hogy a bél mikrobiotájában fellépő rendellenességek a későbbi életében fogékonyá teszik az egyént a betegségek kialakulására (RAUTAVA et al., 2005).

Az emésztőcsatorna körülbelül 10^{14} baktériumsejtet tartalmaz, aminek különböző szakaszain a mikrobiota összetétele és mennyisége eltérő. A gyomorban 10^3 sejt/g, a vékonybélben $10^4 - 10^6$ sejt/g, míg a vastagbélben már több, mint $10^{11} - 10^{12}$ sejt/g a baktériumok száma. Ez a komplex közösség hozzájárul a bélrendszer állapotához és reagál is arra, választ küldve a bél- és anyagcsere-folyamatoknak. Ezek a hatások viszont nem korlátozódnak le a helyi válaszokra, hanem az egész immunrendszerre kifejti hatását (SPENCER et al., 2019). A humán emésztőrendszer mikroorganizmusai jelentős szerepet játszanak a szervezet egészségének fenntartásában. A bélflóra fő feladata a nemkívánatos mikroorganizmusok elleni védelem azáltal, hogy megakadályozzák egyrészt az exogén mikrobák megtelepedését, másrészt a patogének szövetekbe történő betörését. Ezenfelül fontos szerepe van a béltraktus működésében, az immunfunkciókban, a daganatok elleni védelemben, a gyomor épségében és a vérnyomás szabályozásában (SANDERS, 1999). Az egészséges szervezetben a bélmikrobiota tagjai között egyensúly van, a potenciálisan patogén és nem-patogén organizmusok harmóniában élnek egymás mellett (ANDRADE et al., 2012). Bizonyos esetekben, például antibiotikus kezelés során, nem megfelelő étrendnek köszönhetően vagy stressz hatására elpusztulhat a normál bélflóra jelentős része, az egyensúly felborulhat és a

nemkívánatos baktériumok juthatnak túlsúlyra. Ilyen esetben a külső eredetű, élő, probiotikus baktériumok fogyasztása elősegíti a normál bélflóra helyreállítását (BOTH et al., 2012).

2.4.3.2. *Probiotikumok hatása a bélbetegségekre*

A probiotikumok előnyösnek bizonyultak számos emésztőrendszeri betegség, például akut hasmenés, funkcionális emésztési működészavar és gyulladással járó bélbetegségek kezelése során (YOUSEFI et al., 2019). A fekélybetegségek kialakulásának 50-60%-ában a *Helicobacter pylori* tehető felelőssé. A probiotikumok ugyan nem tudják elpusztítani a patogéneket, de képesek elnyomni azok növekedését és csökkenteni a gyomorban létrejött gyulladást. Ennek értelmében, a *H. pylori* hosszú távú, probiotikummal történő kezelése csökkentheti a patogénnel kapcsolatos betegségek (beleértve a gyomorfekély és gyomorrák) kockázatát. A publikált szakirodalom alapján a probiotikumok kettős szerepet játszhatnak a *H. pylori* fertőzés elleni küzdelemben: egyrészt csökkentik az antibiotikum terápia estén fellépő emésztőrendszeri mellékhatásokat, másrészt segítik a baktérium visszaszorítását (ESLAMI et al., 2019).

Az IBS (irritable bowel syndrome), vagyis irritábilis bél szindróma kialakulását a nyálkahártya krónikus vagy kiújuló gyulladása okozza, ami gyakori a gyomor- és bélhurut, valamint az antibiotikummal történő kezelés után. A bélbetegség megjelenése során a bélmikrobiota összetétele módosul, a fakultatív anaerob mikroorganizmusok – mint a *Klebsiella* spp. és az *Enterococcus*-ok – száma növekszik, míg a jelen lévő *Lactobacillus* és *Bifidobacterium* törzsek mennyisége lecsökken (MERCENIER et al., 2003). Egyes kutatások alapján a *L. acidophilus* adagolása hatásos lehet, amit a hasmenés szignifikáns csökkenése mutatott a kezelt betegeknél (MARTEAU et al., 2001).

Ezzel szemben az IBD (inflammatory bowel disease), a gyulladással járó bélbetegségek (ide tartozik a fekélyt okozó vastagbélgyulladás és a Crohn betegség) kialakulásának oka ismeretlen, de szintén összefüggésben van a bélmikrobiota megváltozásával. A probiotikumok képesek ellensúlyozni a gyulladás kialakulását az antigének lebomlásának fokozásával és a gyulladást közvetítő kiválasztásának csökkentésével, továbbá segítik a bélmikrobiota egészséges egyensúlyának helyreállítását és stabilizálják a bélfunkciókat (MERCENIER et al., 2003).

2.4.3.3. *Laktóz intolerancia enyhítése*

A laktóz intolerancia a világ népességének igen nagy százalékát (33-75%) érinti, előfordulása azonban eltérő a különböző régiókban (RATAJCZAK et al., 2020), elsősorban Ázsia és Afrika lakóit érinti, Európában csupán 2%-ra tehető az érintettek száma (TUOHY et al., 2003). A laktáz enzim hiánya vagy nem megfelelő működése miatt a laktóz intoleranciás egyéneknél a laktóz nem bontódik le glükózzá és galaktózzá, ezért tej vagy tejtermék fogyasztása után hasmenés, hasi puffadás, hányinger és fájdalom jelentkezik. A laktóz intoleranciában szenvedő betegek azonban jobban tolerálják a joghurtban lévő laktózt, mint az azonos mennyiségű laktóz jelenlétét a nyers tejben. Ez annak köszönhető, hogy a tejsavbaktériumok nagy mennyiségben

termelnek laktázt, ami a bél lumenben felszabadul a baktérium lízise során, így az képes hatni a bevitt laktózra, enyhítve a tüneteket (SANDERS & KLAENHAMMER, 2001).

2.4.3.4. *Atópiás betegségek tüneteinek csökkentése*

A bélnyálkahártya és a nyálkahártyához kapcsolódó immunrendszer az elsődleges lokációja az allergénnel való érintkezésre és az immunválasz kiváltására. Az a tény, hogy a gazdaszervezet bélmikrobiotája és a probiotikumok erősen befolyásolják a bél nyálkahártya-gát immunfiziológiai szabályozását, új megvilágításba helyezte a táplálkoástudományt. Az atópiás betegségben szenvedő gyermekek bélmikrobiotája nem volt megfelelő, de ez az egyensúlyhiány probiotikumok alkalmazásával kiküszöbölhető volt (RAUTAVA et al., 2005). KUKKONEN és munkatársai (2007) terhes anyák probiotikumok és prebiotikumok kombinációjával való kezelésekor nem tapasztaltak megelőző hatást az allergiás betegségek kialakulására (2 éves korig), de a terápia csökkentette az IgE-hez kapcsolódó (atópiás) betegségek megjelenését.

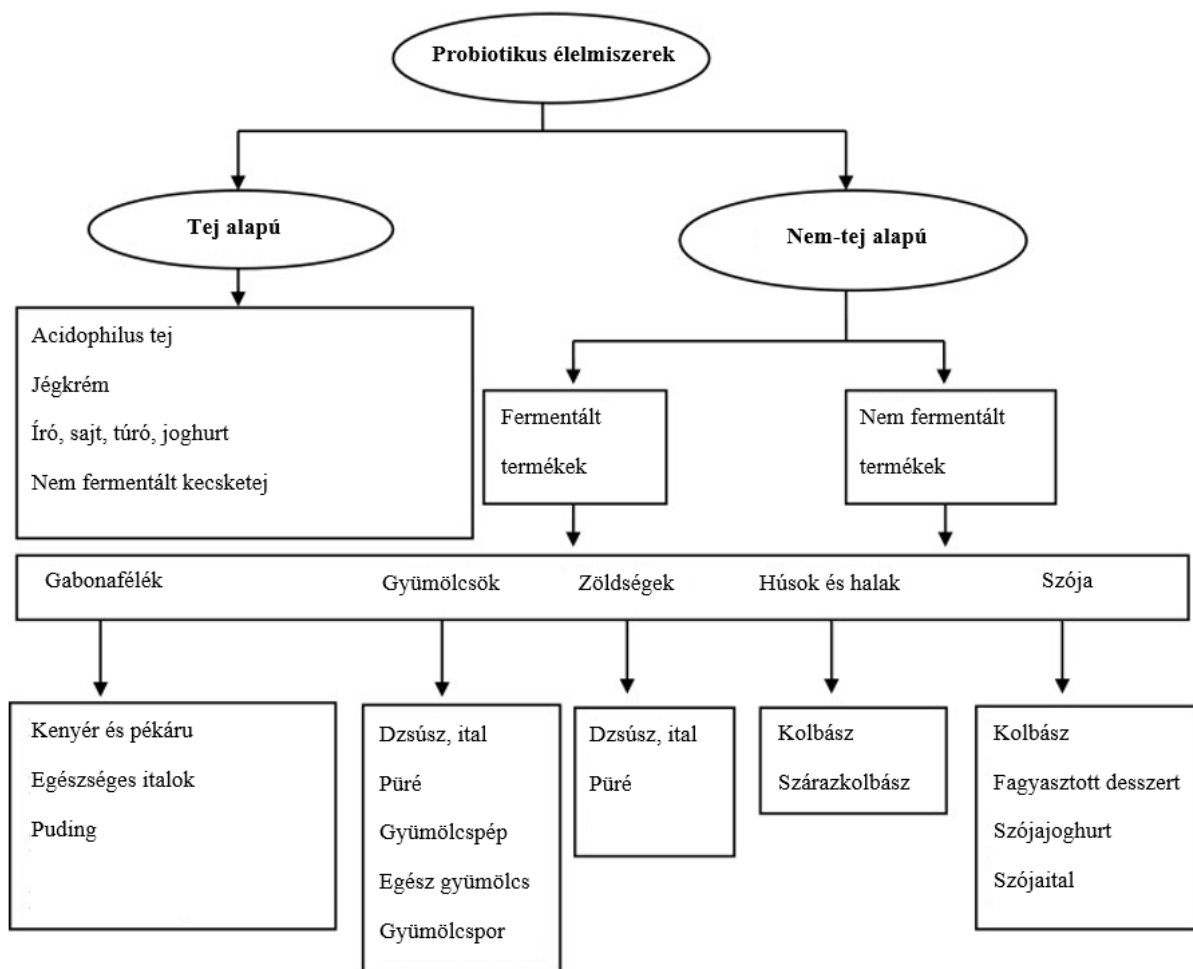
2.4.4. Probiotikus élelmiszerek

A probiotikus élelmiszerek a funkcionális élelmiszerek csoportjába tartoznak, mely fogalmat az 1980-as években vezették be Japánban (WLODZIMIERZ et al., 2005), azonban a mai napig nincs pontosan definiálva. Alapvetően azonban minden megfogalmazás szerint a funkcionális élelmiszerek a nélkülözhetetlen táplálkozási összetevőkön felül a fogyasztó számára kedvező egészségügyi hatással bírnak (SIRÓ et al., 2008). Az első probiotikus termék (joghurtféle) Japánban került piacra, Yakult néven. Dr. Shirota 1930-ban felfedezett egy egyedülálló törzset, ami képes túlélni az emésztőrendszer körülményeit. Ezt a törzset, amit ma már *Lactocaseibacillus casei* Shirota-ként ismerünk, fermentált tej előállítására használta, 1935-ben elkészítve az első üveg Yakult-ot. A *L. casei* Shirota-t tartalmazó Yakult rákellenes, antibakteriális és immunstimuláló aktivitást mutatott (SGOURAS et al., 2004).

Annak ellenére, hogy a fogyasztói igény a nem-tejalapú probiotikus termékek iránt növekszik (DE BELLIS et al., 2010), a probiotikus élelmiszerként forgalomba hozott termékek legnagyobb része tejipari gyártmány (HELLER, 2001, PERES et al., 2012). Ezek között találunk probiotikus joghurtot, kefírt, fermentált tejtalt, tejfölt, vajkrémet, sajtkrémet és érlelt sajtot is (SZAKÁLY, 2004). Azon fogyasztók, akik egészségi (laktóz intolerancia, tejfehérje allergia) vagy életviteli (vegán étrend, vallás) okokból nem fogyaszthatnak tejtermékeket, nem élvezhetik a probiotikus tejalapú készítmények kedvező hatásait, holott az egészséges életmód iránti fokozottabb érdeklődésnek köszönhetően megnőtt a kereslet azon termékek iránt, amelyek az általános tápértéken túlmenően kiegészítő funkcióval, a fogyasztó egészségének megőrzését szolgáló tulajdonsággal rendelkeznek. Hogy ezen életmódok ellenére se kelljen lemondani a probiotikus élelmiszerek nyújtotta egészségre gyakorolt előnyökről, egyre inkább teret nyernek a növényi alapú probiotikus készítmények. A Valio Ltd (Finnország) 1996-ban kezdett nem-tejalapú italokat fejleszteni a *L. rhamnosus* GG törzset használva, majd előállította

a Bioprofit termékét a *L. rhamnosus* GG és a *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* törzsek felhasználásával (OTLES & OZYURT, 2019).

A probiotikus élelmiszerek és italok (5. ábra) egyre népszerűbbek a fogyasztók körében, ugyanis egyre többen ismerik fel az egészségügyi előnyeiket. A tejtermékek (különösen a joghurt) mellett a gyümölcs- és zöldséglevelek is megfelelő közegnek bizonyultak a probiotikus mikroorganizmusok hordozására. Ebből kifolyólag az ilyen jellegű termékek fejlesztése az élelmiszeripar egyik kutatási prioritásává vált, kifejezetten a fejlett országokban, ahol egyre növekszik a vegetáriánus, illetve vegán probiotikus termékek iránti kereslet. A gyümölcsök és zöldségek sokféle prebiotikus vegyületet tartalmaznak, amelyek serkentik a probiotikumok növekedését (SWAIN et al., 2014), azonban a legfőbb kihívást a gyártók számára továbbra is a probiotikus baktériumok túlélése jelenti a zöldség- és gyümölcslevekben (DIMITROVSKI et al., 2015a).



5. ábra: A probiotikus ételek osztályozása és típusai (VIJAYA et al., 2015)

A probiotikus törzsek zöldségekkel és gyümölcsökkel való kombinációja egyszerre képes biztosítani a szervezet számára szükséges probiotikumokat és ételmi rostokat, ezáltal a növényi alapú probiotikus élelmiszerek fejlesztése fontos irány a közeljövőben a probiotikumok

területén. Ennek kivitelezésére többféle mód létezik, melyek közül a legegyszerűbb és legkézenfekvőbb a direkt hozzáadás, például a probiotikus törzs vagy probiotikus fermentált tej közvetlenül a zöldség- vagy gyümölcslehez adható. A kiváló tápanyagösszetétel ellenére azonban számos esetben a növényi nyersanyag nem megfelelő íze problémát okoz, ebben az esetben a probiotikum szimpla hozzáadása önmagában nincs pozitív hatással az organoleptikus tulajdonságokra. Valamint a fermentált tej hozzáadása nem oldaná meg annak a problémáját, aki nem fogyaszt(hat) tejterméket. Ebből kifolyólag a legjobb megközelítés a fejlesztésre a gyümölcsök és zöldségek probiotikus törzsekkel való tejsavas erjesztése. A fermentáció csökkentheti a zöldségfélékben lévő olefinek nagy részét (vagyis a nemkívánatos ízért felelős vegyületeket), miközben szerves savakat, aminosavakat és különféle aromás vegyületeket képezhet, amelyek fokozhatják a termékek kívánatos ízét (GUAN et al., 2021). A starterkultúrákra, azok alkalmazására vonatkozó kutatások jelentős számban napvilágot láttak már (HALÁSZ et al., 1999, LEROY & DE VUYST, 2004), azonban arra, hogy bizonyítottan probiotikus törzseket alkalmazzanak a fermentáció elvégzéséhez, vagy a jó fermentációs tulajdonságú törzsek probiotikus tulajdonságát vizsgálják, eddig csak kevesen vállalkoztak (SÁNCHEZ et al., 2012), annak ellenére, hogy a természetes úton, spontán tejsavas fermentált növényi alapú termékekről bizonyították, hogy probiotikus baktériumok potenciális forrásai lehetnek (LEE et al., 2011, PERES et al., 2012, KHAN & KANG, 2016). Jelenleg Magyarországon a piacon nem jellemző a nem-tejalapú, probiotikus baktérium(ka)t tartalmazó élelmiszeripari termék, amely beilleszthető lenne a mindennapi étkezésbe, ezért egy ilyen jellegű, zöldség- vagy gyümölcs alapú termék (és a technológia) kifejlesztése hiánypótló lehet, amely új szegmenst alapozhat meg a probiotikus termékek piacán.

Zöldségek, gyümölcsök

A gyümölcsöket és zöldségeket elsősorban frissen vagy minimálisan feldolgozott (konzerv, szárított vagy lé) formában fogyasztjuk előszeretettel. Az erjeszhető, de nem erjesztett levét érett és egészséges gyümölcsökből mechanikai eljárással nyerik, amely megőrzi fizikai tulajdonságait. A gyümölcsök szénhidrátok, savak, ásványi anyagok, polifenolok, vízdoldékony vitaminok (C-vitamin és B-vitaminok), A-provitamin, aminosavak, aromás vegyületek, karotinoidok, rostok, fitoszterolok és egyéb bioaktív vegyületek forrásai lehetnek az emberi étrendben (RUIZ RODRÍGUEZ et al., 2020). A zöldségek és gyümölcsök ideális szubsztrátjai lehetnek egy fermentált terméknek, mivel fontos szerepet töltenek be a humán táplálkozásban és már önmagukban is számos jótékony komponenst (ásványi anyagokat, vitaminokat, élelmi rostokat) tartalmaznak, miközben a tej allergén anyagaitól mentesek és mindemellett a fogyasztók szorosban az egészséges táplálkozáshoz kapcsolják őket (PRADO et al., 2008, RIVERA-ESPINOZA & GALLARDO-NAVARRO, 2010, PEREIRA et al., 2011), már önmagukban funkcionális élelmiszereknek tekinthetők. A funkcionális élelmiszerek az eredeti tápértéken felül valamilyen hozzáadott értékkel bírnak, mint például az egészség megőrzését elősegítő vegyületek megnövekedett tartalma, a nemkívánatos összetevők csökkentett mennyisége, és/vagy technológiai tulajdonságokkal rendelkező új összetevők hozzáadása (PENG et al., 2020). A zöldség- és gyümölcslevelek további előnye, hogy a gyomorban történő

emésztésük gyorsabb, mint a tejtermékeké, így a mikroorganizmus sokkal kevesebb időt tölt a gyomor savas környezetében (FERNANDES PEREIRA & RODRIGUES, 2018).

Problémák, nehézségek feltárása

A zöldségek és a gyümölcsök tejsavas erjesztésének technológiája során azonban számos probléma merül(het) fel. Elsősorban hiányoznak a gyümölcsök és zöldségek erjesztéséhez szükséges szelektált törzsek. Jól ismert, hogy a joghurt készítéséhez a *L. bulgaricus*-t használják, de a gyümölcsök és zöldségek tiszta fermentációjához alkalmazott fajok egyelőre nem tisztáztak. Bizonyos növényi eredetű tejsavbaktériumok (pl. *L. plantarum*, *L. acidophilus*) fokozatosan alkalmazásra kerültek zöldséglé-gyümölcsle erjesztéséhez, de egyetlen faj nem használható fel az összes gyümölcs és zöldség erjesztésére a nyersanyagok különbözősége miatt. Ezért elengedhetetlen az adott nyersanyagra történő törzsek szelektálása (GUAN et al., 2021). A gyümölcsök fehérjetartalma változó, más szubsztráthoz (tej, szójatej, gabona) hasonlítva szabad aminosavtartalmuk lényegesen kisebb (DOVE et al., 2009, RUIZ RODRÍGUEZ et al., 2020). A tejsavbaktérium szaporodása szempontjából ez limitáló tényező, a gyümölcsle fehérje-kiegészítésre szorulhat a tejsavbaktériumok nagy szerves nitrogén-forrás igénye miatt. A probiotikus mikroorganizmusok alkalmazásának másik jelentős akadálya az életképesség megőrzése, mivel érzékenyek a nagyon kis pH értékre és az emésztőrendszer enzimeire, a gyümölcsök kisebb pH-ja (3,0 – 4,5) pedig korlátozza a baktériumok növekedését és stabilitását (GANDOMI et al., 2016). NAGPAL és munkatársai (2012) nagy pH tolerancia alapján szelektált *L. plantarum* és *L. acidophilus* törzsek túlélőképességét vizsgálták gyümölcslevekben. Az általuk vizsgált szőlő-, paradicsom- és narancslevekben a *Lactobacillus*-ok túléltek, sőt a gyümölcsleveket felhasználták saját sejtszintézisükhöz. Mivel képesek voltak túlélni az erjesztett levekben nagy savtartalom és kis pH mellett, ezért a gyümölcslevek probiotikus tejsavbaktériumok fermentációjához javasolhatók.

A MAGYAR ÉLELMISZERKÖNYV (2003) erjesztett probiotikus termékekre vonatkozó előírása kimondja, hogy a probiotikus terméknek a minőség megőrzési idő végén is legalább 6 log TKE/ml élőcsíraszámot kell tartalmaznia. A probiotikumok pedig érzékenyek a környezeti paraméterekre. TEIXEIRA és munkatársai (1995) a *L. bulgaricus* vizsgálatokor, szárítás és tárolás során, többek között a tárolási hőmérsékletet és a vízaktivitást állapították meg kritikus tényezőként, amik befolyásolják a baktérium túlélését. Ebből kifolyólag a legtöbb esetben a sejtek életképességének megőrzése céljából a gyümölcsleveket 4 °C-on tárolják, amikor azok probiotikus aktivitását vizsgálják. Különösképp a nem fermentált közegben a szerves savak és az ízkomponensek negatív hatással lehetnek a probiotikus tejsavbaktériumok túlélésére (DANESHI et al., 2013), a fermentáció azonban hozzájárul a probiotikus baktériumok életképességének javításához (NGUYEN et al., 2019).

A piacon feltörekvő funkcionális élelmiszerek közül a probiotikus ételeket és italokat a jövő egyik kiemelkedő élelmiszereként tartják számon, ami a fogyasztók között széles körben elfogadott (LYE et al., 2016). Az erjesztett gyümölcsle kereskedelmi forgalomba hozatala azonban kihívás lehet számos tényező tekintetében, például a termék nagy savtartalmára, a

termékbiztonságra és a fogyasztói preferenciára vonatkozóan (MUHIALDIN et al., 2020b). PIMENTEL és munkatársai (2015a) által végzett kísérlet során azt tapasztalták, hogy a probiotikus tenyészet hozzáadása nem befolyásolta az almale fogyasztói elfogadottságát. Azonban a gyümölcsé típusától és az alkalmazott törzstől függően változhat a termékek elfogadottsága a fogyasztók körében. A funkcionális élelmiszerek vásárlási szándékával kapcsolatos kulcstényezők az egészségügyi hatások mellett az íz, minőség és ár/érték arány. Azonban a tapasztaltak alapján az ízvilág jelentőségét kifejezetten hangsúlyozni kell, ugyanis az európai fogyasztók nem hajlandók kompromisszumot kötni a termék ízét illetően, csak akkor vásárolnak egészséges élelmiszereket, ha meg vannak győződve arról, hogy azok megőrzik érzékszervi tulajdonságaikat (PAPP-BATA et al., 2018).

2.5. Prebiotikumok

A prebiotikumok, 1995-ös definíciója szerint, nem emészthető élelmiszer-összetevők, amik jótékony hatással vannak a gazdaszervezet egészségére azáltal, hogy egy vagy több, a bélben található baktériumfaj növekedését és/vagy aktivitását szelektíven serkentik, jelentősen megváltoztatva a bélmikrobiota összetételét (GIBSON & ROBERFROID, 1995). Később azonban pontosították a fogalmat, miszerint a prebiotikumok olyan szelektíven fermentálható összetevők, amik előnyös változást eredményeznek a bél mikrobiotájának összetételében és aktivitásában, kedvező hatást gyakorolva a fogyasztó egészségére. A prebiotikumokkal szembeni követelmény az emberi emésztőenzimokkal szembeni rezisztencia, valamint a bélben jelen lévő kedvező baktériumok életképességének, aktivitásának növelése azáltal, hogy a bélben lévő baktériumok fermentálni képesek (MARSHALL, 2008). A prebiotikumoknak potenciális szerepe van a bél ökoszisztémájának fenntartásában és a probiotikumok stimulálásával számos hatása van a gazdaszervezetre, úgy mint a tápanyagok és vitaminok előállításának segítése, a kórokozók elleni védelem és az immunrendszer egyensúlyának fenntartásához való hozzájárulás. A prebiotikumok nem emésződnek meg a felső gyomor-bél traktusban, hanem a vastagbélben található baktériumok fermentálják, amik rövid láncú zsírsavak képződéséhez vezetnek (AZAD et al., 2020). A prebiotikumok jelenléte a bélben növelheti a probiotikus törzsek ott-tartózkodását is, bakteriális adhézión tulajdonságai révén. Ezek úgynevezett „csali” receptorként működnek, ezzel megakadályozva a patogének bélben való kitapadását (HICKEY, 2012). A legismertebb prebiotikumok a növényi eredetű galakto-oligoszacharidok (GOS), frukto-oligoszacharidok (FOS), az inulin. Továbbá az oligoszacharidok raffinóz családját és a rezisztens keményítőt is elismerték prebiotikus szénhidrátként, mivel ezek nem szívódnak fel a bélben és elősegítik a bélben lévő kedvező baktériumok szaporodását (DWIVEDI et al., 2014). A prebiotikumok számos növényben előfordulnak, például cikóriában, hagymában, fokhagymában, spárgában, articsókában, póréhagymában, banánban és paradicsomban (PÁPAI, 2021). A szinbiotikus termékek a probiotikumok és prebiotikumok egyidejű hozzáadását jelenti (egy élelmiszerhez), ami szinergikus aktivitáshoz vezethet (XAVIER-SANTOS et al., 2019).

2.6. A kísérletekbe bevont zöldségek és gyümölcsök bemutatása

2.6.1. Narancs

Magyarország, kontinentális éghajlata miatt, ugyan nem tartozik a narancstermelő nemzetek közé (FAOSTAT, 2017), de mivel a narancslé a legszélesebb körben ismert és fogyasztott gyümölcs a világon (WIBOWO et al., 2015, LERMA-GARCÍA et al., 2016, MASTELLO et al., 2015), termékfejlesztési kutatásomat érdemesnek tartottam ezen gyümölcsfajtaival kezdeni. Az elmúlt évtizedben a fejlett országokban míg a friss citrusfélék fogyasztása visszaszorult, a feldolgozott gyümölcsle fogyasztása növekvő tendenciát mutat (ROS-CHUMILLAS et al., 2007). A narancslé frissítő íze és attraktív színe miatt minden korosztály által kedvelt, az eredeti savanykás ízvilága miatt pedig ideális alapanyagként tűnik egy tejsavas fermentált termék kialakításához. A narancs nagy mennyiségű fogyasztása, mind gyümölcs, mind gyümölcslé formájában, lehetővé teszi, hogy a fogyasztó számára kiváló bioaktív komponensek forrásává váljon az étrend során. Számtalan nélkülözhetetlen tápanyagot tartalmaz, karotinoid (pl. β -karotin), flavonoid (elsősorban flavanonok, mint például heszperidin, naringenin és narirutin), ásványi anyag és élelmi rost tartalma kiemelkedő, továbbá kiváló C-vitamin forrás (DE ANCOS et al., 2020). Egészségi hatása széles körben kutatott, fogyasztását krónikus betegségek kockázatának csökkentésével hozták összefüggésbe (DUQUE et al., 2016). A szakirodalom szerint a napi narancslé bevitel csökkenti az oxidatív stresszt, ráadásul fogyasztása összefügg a koleszterinszint és a magas vérnyomás szabályozásával, minimalizálja a stroke vagy a rák kockázatát (CONSTANS et al., 2015, KHANDPUR & GOGATE, 2015). A gyümölcslevek magas cukortartalmát tévesen hozzák összefüggésbe az elhízással, ugyanis a 100%-os narancslé csak olyan természetes cukrokat tartalmaz, mint például a szacharóz, fruktóz és dextróz, összesen körülbelül 20 g/kg mennyiségben. Ráadásul egy összetett élelmiszermatrixról beszélünk, így a benne található egyéb hasznos összetevők ellensúlyozzák az egyszerű cukrok lehetséges káros hatásait. Klinikai vizsgálatok is utalnak arra, hogy a 100%-os gyümölcslé fogyasztása nincs összefüggésben a testtömeg-index növekedéssel (PONCE et al., 2019, DE PAIVA et al., 2019).

2.6.2. Meggy

A meggy az egyik legősibb gyümölcsfaj, barlangokban talált régészeti leletekből, magokból tudjuk, hogy Európában már Kr. e. 5000-ben is fogyasztották (BÉKEFI, 2013). Magyarország meggytermesztése kiemelkedő jelentőséggel bír, az egyik vezető ország ebben a tekintetben (FAOSTAT, 2017). A meggyet már önmagában funkcionális élelmiszernek tekinthetjük nagy antioxidáns tartalma miatt (BLANDO et al., 2004). A meggy fogyasztásával biztosítani tudjuk az ember számára ajánlott napi C-vitamin bevitelt (15 mg / 100 g) (SREDOJEVIC, 2014), jelentős polifenol tartalmának köszönhetően pedig fontos szerepet játszik az emberi egészség fenntartásában (REPAJIC et al., 2015). A meggylé antioxidáns aktivitása és a központi idegrendszerben jelen lévő enzimeket gátló képessége arra enged következtetni, hogy a meggylé bizonyos idegvédő aktivitással is rendelkezhet (CÁSEDAS et al., 2016). A piros gyümölcslevekben a fenoltartalom is jelentős, ami ezáltal befolyásolhatja a *Lactobacillus*

életképességét. Nagy *Lactobacillus* életképesség csökkenést figyeltek meg például gránátalma- és ribizlilében, feltehetőleg a nagy fenoltartalom miatt (NUALKAEKUL & CHARALAMPOPOULOS, 2011), ami azonban a törzs polifenolhoz való előzetes adaptációjával kiküszöbölhető (PERRICONE et al., 2014). A meggyet nagy savtartalma és alacsony összes oldott szárazanyag-tartalom/titrálható savtartalom aránya miatt ritkán fogyasztják frissen, nyersen. Feldolgozva, gyümölcslé, lekvár, fagyasztott vagy szárított formában preferálják (BLANDO & OOMAH, 2019). A tejsavas erjesztés megfelelő alternatívája lehet a meggy gyümölcs feldolgozásának, ráadásul a fermentált gyümölcslének számos, az egészségre gyakorolt előnye van a friss gyümölcslével szemben (MUHIALDIN et al., 2020b). A meggylé tejsavas fermentációja azonban kevésbé kutatott terület.

2.6.3. Szilva

A szilva a rózsafélék (*Rosaceae*) családjába, a *Prunus* nemzetség *Prunus* alnemzettségébe tartozó fajok összefoglaló neve. A csonthéjas magvú gyümölcsöket termő olyan közismert növények tartoznak még ide, mint a cseresznye, őszibarack, kajszibarack és a mandula. A THE PLANT LIST (2013) szerint körülbelül 200 faj tartozik jelenleg ebbe a nemzetségbe. A szilva az egyik legnagyobb mennyiségben termelt gyümölcs a világon (GONZÁLEZ-GARCÍA et al., 2016), Magyarországon is régóta nagy mennyiségben termesztik a nemes, más néven európai szilvát (*Prunus domestica* L.) (SZALAY et al., 2017). A többi csonthéjashoz viszonyítva a nagyobb hidegtűrés és a jobb alkalmazkodóképesség jellemzi, a betakarítás idejét és módját a felhasználási cél határozza meg (SOLTÉSZ, 1997). Felhasználása igen sokrétű, kitűnő lekvár vagy aszaltvány készül belőle, de a hungarikumnak számító szilvapálinka alapját is értelemszerűen e faj adja. A szilva a fogyasztók körében világszerte az egyik legfontosabb gyümölcsé vált, bioaktív komponenseinek, fenolsav, karotinoid, ásványi anyag és pektin tartalmának köszönhetően igen értékes alkotóeleme az emberi étrendnek (CABRERA-BAÑEGIL et al., 2020, WALKOWIAK-TOMCZAK, 2008). A csonthéjas gyümölcsök bioaktív komponenseik révén képesek fellépni a metabolikus szindróma ellen, mely során az elhízás és a gyulladás komoly egészségi problémákat okozhat (GIAMPIERI et al., 2014, PISTOLLATO et al., 2015). Továbbá a polifenolok vérnyomáscsökkentő, érlemeszesedés gátló és antioxidáns hatásának köszönhetően segítenek megelőzni és csökkenteni a szív- és érrendszeri megbetegedéseket (GIAMPIERI et al., 2015). A szilvában található főbb polifenolok a fenolos vegyületek, mint például a klorogén- és neoklorogénsavak, valamint az antocianinok. A flavonoidok közül a proantocianidinek vannak jelen bőségesen, valamint lignánt is tartalmaz bizonyos mennyiségben (SEPTEMBRE-MALATERRE et al., 2018). A gyümölcsök polifenol és antioxidáns tartalma számos tényezőtől függ, a környezeti hatások, éghajlati viszonyok mellett a fajta is befolyásolja koncentrációjukat (KIM et al., 2003). SAHAMISHIRAZI és munkatársai (2017) 178 szilvafajtát vizsgálva igen változatos polifenol tartalmat (384,5 – 8415,1 mg GAE/kg) mértek, ami elsősorban a szilva fajtájától és betakarítási időpontjától függött.

2.6.4. Fekete törpeberkenye

A fekete törpeberkenye, más néven arónia (*Aronia melanocarpa*) elnevezése vélhetően annak köszönhető, hogy termése hasonló megjelenésű a közeli rokon berkenyefajokéhoz (*Sorbus* spp.). A berkenye (*Sorbus*) és a törpeberkenye (*Aronia*) azonban két különböző növénynemzetség, ennek ellenére utóbbit a gyümölcsstermelők is fekete berkenyeként említik. A rózsafélék (*Rosaceae*) családjának többi tagjához hasonlóan a fekete berkenyének is igen nagy a gyümölcscukor, pektin és csersavtartalma. Jóllehet a cserje Észak-Amerikában őshonos, napjainkban egészségügyi előnyei miatt a világ minden táján termesztik (MENG et al., 2019). A fekete berkenye közkedvelt nyersanyag többek között gyümölcslevek, nektárok, szirupok, teák, borok előállításához (STRIGL et al., 1995), míg a természetes gyümölcslé diabetikus italként is fogyasztható, de természetes színezékként is használják (KIM et al., 2020). A kereskedelemben leginkább elterjedt arónia fajta a Viking (TAHERI et al., 2013). Hazai termesztésre a Nero ígérkezik alkalmasnak, de Fertődön egyaránt nagy termőképességűnek mutatkozott a Viking, a Nero, valamint az Albigowsky fajta is (SOLTÉSZ, 1997). A fekete berkenye kiváló beltartalmi, táplálkozási tulajdonságokkal rendelkezik (OBAE et al., 2017), az egyik legjobb bioaktív komponens forrásként dokumentált növény, nagy mennyiségben tartalmaz antocianinokat, fenolsavakat, flavonolokat (SIMIĆ et al., 2016). Rendkívül gazdag polifenol forrás, kiemelkedő antioxidáns tartalommal (ZHENG & WANG, 2003, WU et al., 2004, JAKOBEK et al., 2011, DENEV et al., 2012). BENVENUTI és munkatársai (2006) összes polifenol tartalomra 690,2 mg-ot, antociánra 460,5 mg-ot mértek a 100 g friss gyümölcsben (Nero fajta). Farmakológiai aktivitása széles körben kutatott. A legújabb kutatások a gyümölcs polifenoljainak és fenolos komponenseinek antioxidáns és gyulladáscsökkentő (DENEV et al., 2019), valamint idegvédő és memória javító hatásával foglalkoznak (DASKALOVA et al., 2019). A növények antimikrobiális aktivitása egyrészt a fenolos komponenseken alapszik, a fekete berkenye antibakteriális hatása néhány élelmiszer eredetű kórokozó, például *B. cereus* és *S. auerus* ellen bizonyított is (LIEPIŃA et al., 2013).

2.6.5. Birsalma

A birs (*Cydonia oblonga*) a Rosacea család tagja és a kaukázusi területekről származik. A fajtákat általában a termés alakja szerint különböztetjük meg: ha a termés alma alakú, birsalmáról, ha körte alakú, birskörtéről beszélünk. A meghatározást azonban nehezíti, hogy ugyanaz a fa egymást követő években körte, majd alma alakú gyümölcsöket terem (SOLTÉSZ, 1997). A héját borító „szőr” a gyümölcs érésével eltűnik. A levegőre gyorsan oxidálódó gyümölcshús rendkívül fanyar (SILVA et al., 2004). A friss birsalma fogyasztása nem igazán elterjedt túl savanyú íze és fásága miatt (GRIŃÁN et al., 2019). A birsalma almabor és pálinka kiváló alapja, de gyümölcslevet, befőttet is készítenek belőle. Pektintartalmának köszönhetően jó zselésítő tulajdonsággal rendelkezik, ami miatt birsalmasajtként előszeretettel fogyasztjuk. A gyümölcs különböző fitokomponenseket tartalmaz, többek között epikatekint és procianidint (SILVA et al., 2005). Többek között antioxidáns, antimikrobiális, antiallergén és UV védő hatásáról ismert (SABIR et al., 2015). Számos tanulmány számolt be arról, hogy a birs

fenolsavak és flavonoidok természetes forrása, amik hatásos antioxidánsok (SILVA et al., 2004, OLIVEIRA et al., 2007). A gyümölcs levét növényi gyógyszerek előállítására is használják antioxidáns, gyulladáscsökkentő, rákellenes tulajdonságainak köszönhetően (DIN GANAIE et al., 2020).

2.6.6. Paradicsom

Magyarországon a paradicsom az egyik a 20 (árutermelés szempontjából) legnagyobb mennyiségben előállított terméke közül (FAOSTAT, 2019). A paradicsom különféle bioaktív komponenseket, úgy mint polifenolokat, karotinoidokat és vitaminokat tartalmaz, amiknek számos jótékony hatása van a fogyasztó számára. A paradicsom és a belőle előállított termék így kiváló mikrotápanyag forrás lehet (KUMAR et al., 2019). A feldolgozott paradicsomot előszeretettel alkalmazzák az élelmiszeriparban, elsősorban paradicsomlé és ketchup formájában (BAYOD et al., 2008). Különböző feldolgozási módszereket alkalmaznak az eltarthatóságának növelése érdekében, hogy megőrizzék vagy javítsák megjelenésüket, állagukat vagy ízüket (ROJAS et al., 2019). A paradicsomból készített termékek többek között hővel kezeltek, homogenizáltak és/vagy – a jellemzőik megváltoztatásának érdekében – fermentáltak. Korábbi tanulmányok kimutatták, hogy erjesztéssel az ember egészségére jótékony hatással bíró komponensek szintje javítható a különböző gyümölcsökben és zöldségekben, valamint a technológia alkalmas ezen élelmiszerek tápértékének gazdagítására (SEPTEMBRE-MALATERRE et al., 2018).

3. KÍSÉRLETI ANYAGOK ÉS VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

A vizsgálatok a Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ – Élelmiszer-tudományi Kutatóintézetének Biológiai Osztályán készültek.

3.1. Alkalmazott *Lactobacillus* törzsek

A vizsgálataimhoz és törzsszelekcióhoz alkalmazott *Lactobacillus* (*L.*) törzsek a 4. táblázatban láthatók.

4. táblázat: A vizsgálatokhoz alkalmazott *Lactobacillus*-ok törzsgyűjteménye

Vizsgált fajok	Törzsek	Rövidített jelölés	Származási hely	Bizonyítottan probiotikus
<i>Lactobacillus</i> (<i>L.</i>) <i>acidophilus</i>	150	L150	Chr. Hansen ¹	✓
	LA-5	LA-5	Chr. Hansen	✓
	N2	N2	AFP ²	x
<i>Lacticaseibacillus</i> (<i>L.</i>) <i>casei</i>	Shirota	Shirota	FVM ³	✓
	LC-01	LC-01	Chr. Hansen	✓
<i>Limosilactobacillus</i> (<i>L.</i>) <i>fermentum</i>	D13	D13	AFP	x
	DT41	DT41	AFP	x
<i>Lactiplantibacillus</i> (<i>L.</i>) <i>plantarum</i>	2142	2142	AFP	x
<i>Lacticaseibacillus</i> (<i>L.</i>) <i>rhamnosus</i>	GG	LGG	Multi-tabs ⁴	✓
<i>Limosilactobacillus</i> (<i>L.</i>) <i>reuteri</i>	(Protectis) DSM 17938	Reuteri	BioGaia ⁵	✓

¹Chr. Hansen: Chr. Hansen (Hørsholm, Dánia)

²AFP: Perugia-i Egyetem Mezőgazdasági Tanszék, Tejipari Intézet, Olaszország

³FVM: Utrecht-i Egyetem, Állatorvosi Kar, Hollandia

⁴Multi-tabs® IMMUNO tablettából izolálva

⁵BioGaia® ProTectis® Baby cseppből izolálva

3.2. Alkalmazott táptalajok és összetételük

A *Lactobacillus*-ok felszaporításához és kimutatásához alapvetően a *Lactobacillus* szelektív de Man, Rogosa és Sharpe (MRS) táplevest és agart használtam, míg az összecsírás szám megállapításához PCA (Plate Count Agar) lemezt alkalmaztam. Az egyes táptalajok receptúráit az Oxoid kézikönyv (THE OXOID, 1976) alapján határoztam meg.

de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) tápleves

Bakteriológiai pepton	10 g/l
Húskivonat	10 g/l
Élesztőkivonat	5 g/l
Glükóz	20g/l
Trinátrium-citrát	4,4 g/l
Nátrium-acetát	5 g/L
Magnézium-szulfát	0,2 g/l
Mangán-szulfát	0,05 g/l
Dikálium-hidrogén-foszfát	2 g/l
pH 6,2 ± 0,2; sterilizálás 121 °C-on 15 percig	

Nátrium-glutamátos (MSG) MRS tápleves

MRS tápleves összetétel +

Nátrium-glutamát	10 g/l
------------------	--------

pH 6,2 ± 0,2; sterilizálás 121 °C-on 15 percig

MRS agar

MRS tápleves összetétel +

Agar	15 g/l
------	--------

pH 6,2 ± 0,2; sterilizálás 121 °C-on 15 percig

Cikloheximides MRS agar

MRS agar összetétel +

Cikloheximid	0,1 g/l
--------------	---------

pH 6,2 ± 0,2; sterilizálás 121 °C-on 15 percig

Brómkrezolbitoros MRS agar

MRS agar összetétel +

Brómkrezolbitor	0,1 g/l
-----------------	---------

pH 6,8 ± 0,2; sterilizálás 121 °C-on 15 percig

PCA (Plate Count Agar)

Tripton	5 g/l
Glükóz	1 g/l
Élesztőkivonat	2,5 g/l
Agar	15 g/l

pH 7,0 ± 0,2; sterilizés 121 °C-on 15 percig

Tejtáplé tejsavbaktériumok fenntartására

Sovány tejpör	100 g/l
Bakteriológiai pepton	10 g/l
Brómkrezolbíbor	0,04 g/l
Kalcium-karbonát	0,2 g/kémcső

pH 6,8 ± 0,2; sterilizés 121 °C-on 15 percig

3.3. Alkalmazott növényi nyersanyagok

Az alkalmazott növényi nyersanyagok (5. táblázat) kiválasztása során egyrészt azt tartottam szem előtt, hogy közkedvelt és a legszélesebb körben fogyasztott gyümölcsle legyen, aminek megfelelően a narancslevet választottam. Másrészt, hogy magyar termesztésű zöldségek és gyümölcsök fermentációs kísérleteit végezzem el, ami a Nemzeti Agrárkutató és Innovációs Központ (NAIK) – Gyümölcs- és Dísznövénytermesztési Kutatóintézet (GYKI) és Zöldségtermesztési Önálló Kutató Osztállyal (ZÖKO) együttműködve tudott megvalósulni. A többfajta nyersanyag kiválasztása az általános következtetések levonása érdekében történt meg, ugyanis a különböző beltartalmi értékek eltérő hatással lehetnek a fermentációra.

Mosást követően a csonthéjas gyümölcsök magját eltávolítottam, a birsalmát megpucoltam és magházát kivágtam. A birsalma kemény húsát a feldolgozhatóság megkönnyítése érdekében aprítás után mikrohullámú sütőben pár perc alatt puhára pároltam. A paradicsom feldolgozására több módszert vizsgáltam (4.6.2. fejezet), melyek közül a „hot break” bizonyult a leginkább megfelelőnek. Ennek során a paradicsomokat forró vízben addig melegítem, amíg a héja meg nem reped. Az előkészített zöldségekből és gyümölcsökből, a megfelelő állag elérése érdekében a 6. táblázatban található mennyiségű vízzel kiegészítve, botmixer segítségével történt meg a lékinyerés, melyet kétszeri, különböző pórúsátmérőjű (1,0 és 0,8 mm) fémszűrőn való szűrés követett. A fekete berkenye és paradicsom esetében a magok szeparálása azok mérete és mennyisége miatt a szűrés során történt meg. A kereskedelmi forgalomban kapható narancslevek nem szorultak további kezelésre, a frissen facsart narancslénél viszont kézi facsaróval nyertem ki a narancslevet, ezt szűretlenül vizsgáltam. A friss gyümölcsök, zöldségek természetes mikroflórájának köszönhetően a legtöbb esetben

indokolttá vált a hőkezelés. A jelen lévő mikroorganizmusok számának lecsökkentésére vízfürdőben történő pasztörözést alkalmaztam, aminek idejét és hőmérsékletét több esetben az adott növényi nyersanyagra optimalizáltam.

5. táblázat: Alkalmazott növényi nyersanyagok

Zöldség, gyümölcs	Fajta vagy típus	Származási hely
Narancs	Rauch Happy Day 100% narancslé C vitaminnal	InterSpar
	Vitafit 100% friss narancslé	Lidl
	Görög Navelina narancs	Helyi piac
Meggy	Petri	NAIK – GYKI (Újfehértó, Érd)
	Újfehértói Fürtös	
	Érdi Bótermő	
Szilva	Ageni	NAIK – GYKI (Cegléd)
	Stanley	
Fekete törpeberkenye	Nero	NAIK – GYKI (Fertőd)
	Viking	
Birsalma	Mezőkövesdi	NAIK – GYKI (Újfehértó)
	Angersi	
	Csokonai	
Paradicsom	Cherrola	NAIK – ZÖKO
	Uno Rosso	
	Mobil	
	+ további 16 fajta (4.6. fejezet, 33. táblázat)	

6. táblázat: Feldolgozás során a nyersanyag és víz aránya (m/V)

Faj	Nyersanyag mennyisége (g)	Víz mennyisége (ml)
Meggy	1000	-
Szilva	700	300
Fekete törpeberkenye	800	200
Birsalma	500	500
Paradicsom	1000	-

3.4. Fermentációs kísérletek

A fermentációs kísérletek során a -70 °C-on, CryoBank (Mast Diagnostica GmbH, Germany) rendszerben tárolt *Lactobacillus* törzseket előzőleg MRS tápvelesben élesztettem és szaporítottam fel. A kétszeri átoltást követően az egyéjszakás sejtek 1 ml-ét 2700 g-n, 10 percen keresztül centrifugáltam, majd a felülúszó leöntését követően peptonos fiziológias sóoldattal (0,85 m/V% NaCl, 0,1 m/V% pepton) oldottam vissza. A zöldség- és gyümölcsleveket

kémcsőben (10 ml) vagy üvegpalackban (100 ml) 1%-os kezdeti inokulummal (1 V/V%, kiindulási sejtszám a lében 7 log TKE/ml) oltottam be és 30 °C-on 24 órán keresztül inkubáltam. A vizsgálatok során 3 párhuzamossal dolgoztam, mely eredményekből átlagot számítottam. Azon leveknél, ahol pH állításra volt szükség, steril 1 M nátrium-hidroxidot alkalmaztam.

3.5. Alkalmazott vizsgálati módszerek

3.5.1. Élősejtszám meghatározás szélesztéses módszerrel

A növényi nyersanyagon jelen lévő természetes mikroflóra (összcsíraszám) élősejtszám meghatározását szélesztéses módszerrel végeztem. A mintákból tízszeres tova futó hígítási sort készítettem, a hígítási sor szükségesnek vélt három tagjából 100-100 µl-t szélesztőbot segítségével PCA agarra szélesztettem. A lemezeket 30 °C-os inkubátorba helyeztem és 48-72 óra elteltével történt meg a telepszámlálás. Az élősejtszámot a MAGYAR ÉLELMISZERKÖNYV „A nyers- és hőkezelt tej vizsgálati módszerei” (2003) című előírásban leírtaknak megfelelően a megszámlolt telepekből állapítottam meg (azokat a lemezeket figyelembe véve, amelyeken a telepszám 30 és 300 között volt), telepképző egységben, 1 ml mintára vonatkoztatva (TKE/ml).

3.5.2. Élősejtszám meghatározás Miles és Misra módszerrel

A vizsgálatok során a *Lactobacillus* élősejtszám meghatározását Miles és Misra módszerrel végeztem (MILES et al., 1938). A mintákból tízszeres tova futó hígítási sort készítettem, a hígítási sor szükségesnek vélt három tagjából háromszor 20-20 µl-t *Lactobacillus* szelektív MRS agarra cseppentettem. A lemezeket 30 °C-os inkubátorba helyeztem és 48-72 óra elteltével történt meg a telepszámlálás. Az élősejtszámot a megszámlolt telepekből (a *Lactobacillus*-ok MRS agaron fényes, szabályos kerek telepeket képeznek) állapítottam meg, telepképző egységben, 1 ml mintára vonatkoztatva (TKE/ml).

3.5.3. Növekedési ráta

Amennyiben a kiindulási sejtszámban nagyobb eltérést tapasztaltam, a megfelelőbb összehasonlíthatóság érdekében növekedési rátát számoltam:

$$\text{Növekedési ráta}(\%) = \frac{24 \text{ h élősejtszám (log TKE/ml)}}{0 \text{ h élősejtszám (log TKE/ml)}} * 100 - 100$$

3.5.4. pH mérés

A pH mérése digitális pH mérővel (Mettler-Toledo GmbH, Svájc), szobahőmérsékleten (24 °C) történt, amit a mérések előtt standard pufferrel kalibráltam (4,00 és 7,00 ± 0,01, Mettler-Toledo GmbH, Svájc).

3.5.5. Titrálható savtartalom meghatározás

A titrálható savtartalom (titratable acidity, TA) desztillált vízzel tízszeresére hígított mintából, 0,1 M nátrium-hidroxid oldattal történő titrálással, fenolftalein (1 m/V% etanolban) indikátor (színátcsapás szintelenből rózsaszínbe) használata mellett került meghatározásra. A fekete berkenye sötét színe miatt az átcsapási pont pH mérése mellett, 8,2 pH értékig történt. A fogyott mérőoldat térfogatából és a nátrium-hidroxid faktorából kiszámíthatjuk a titrálható savtartalom mennyiségét:

$$\text{Titrálható sav}(\%) = \frac{[\text{NaOH fogyasztás (ml)} \times \text{NaOH faktor} \times \text{egyenérték} \times 100]}{\text{bemért mennyiség (ml)}}$$

3.5.6. Összes oldott szárazanyag-tartalom mérés

Az összes oldott szárazanyag-tartalom (total soluble solids, TSS) mérésére digitális refraktométerrel (Schmidt+Haensch GmbH & Co., Németország) került sor, amit a mérések előtt desztillált vízzel kalibráltam. A refraktométer az eredményeket °Brix-ban (°Bx) kifejezve adja meg. Egy Brix-fok a cukortartalma annak az oldatnak, amelynek 100 grammja 1 gramm szacharózt tartalmaz, vagyis tömegszázalékos (%) szacharóztartalmat fejezi ki.

3.5.7. Összes polifenol tartalom meghatározás Folin-Ciocalteu reagenssel

A módszer redukáló képességen alapszik, a mérés 10-es pH-n történik (SINGLETON, et al., 1999). A keletkező kék szín (Mo(VI) sárga + e- (antioxidánstól) Mo(V) kék) spektrofotometriásan nyomon követhető. A megfelelően hígított minták (2,0 g minta 80 V/V% metanollal 20 ml-re kiegészítve, 4 °C-on 24 óráig extrahálva) 100 µl-ét Folin-Ciocalteu reagens (0,5 ml) és 20%-os nátrium-karbonát adagolás (2 ml) után 60 percig, szobahőmérsékleten inkubáltam, majd 750 nm-en, Jasco Spektrofotométeren (Model 7850) mértem az abszorbanciát. Az eredmények kiértékeléséhez galluszsav (0,1 – 3,0 mM) kalibrációs egyenest alkalmaztam.

3.5.8. Antioxidáns kapacitás mérés FRAP módszerrel

A FRAP (ferric reducing ability of plasma) egy színreakció, az antioxidánsok a vas(III)-ionokat vas (II)-ionokká redukálják, amelyek tripiridil-triazinnal (TPTZ) színes komplexet alkotnak (BENZIE & STRAIN, 1996). A keletkező színes vegyület koncentrációja arányos az antioxidánsok koncentrációjával, amit spektrofotometriásan (593 nm-en) mérünk. A FRAP reagenst frissen készítem: 20 ml acetát puffer (300 mM, 3,6 pH) + 2 ml TPTZ oldat + 2 ml vas(III)-klorid oldat + 2,4 ml desztillált víz, 37 °C-os vízfürdőben inkubálva. Az összes polifenol tartalom mérésénél említett, megfelelően hígított mintához (30 µl) 1 ml FRAP reagenst adtam, majd 10 percig 37 °C-on inkubáltam. Ezután Jasco Spektrofotométeren (Model 7850) 593 nm-en mértem az abszorbanciát. Az eredmények kiértékeléséhez vas(II)-szulfáttal (0,1 – 1,0 mM) készítettem kalibrációs egyenest.

3.5.9. DPPH gyök megkötésén alapuló antioxidáns kapacitás mérés

A stabil DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) gyök megkötésén alapuló antioxidáns kapacitás mérés a legkorábbi módszerek közé tartozik. A reakció során a sötétlila színű gyök antioxidánsokkal reagálva elveszti a színét, amit 517 nm hullámhosszon mérünk. A DPPH reagenst frissen készítem (0,1 mM). Az összes polifenol tartalom mérésénél említett, megfelelően hígított mintához (50 µl) 2 ml DPPH reagenst adtam, 37 °C-on 30 percig inkubáltam és Jasco Spektrofotométeren (Model 7850) 517 nm-en mértem az abszorbanciát (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). Az eredmények kiértékeléséhez Trolox koncentráció sorozattal (0,1 – 1,0 mM) készítettem kalibrációt.

3.5.10. Flavonol- és antocianin-tartalom mérés HPLC módszerrel

Minta előkészítés

A meggy alapanyag esetén az 1,0 g mintát 2 ml-es Eppendorf csövekbe mértem, 5 percig centrifugáltam (2700 g), a felülúszót leöntöttem, a centrifugálási maradékot 1 ml, az elválasztási módszernél alkalmazott kezdeti eluensben (acetonitril : 1 % hangyasavas desztillált víz = 1,5 : 98,5) oldottam, homogenizáltam. Az így kapott mintát 10 percre ultrahangos vízfürdőbe helyeztem, majd ismét centrifugáltam. Az extrakciós műveletek végén a felülúszókat egyesítettem, 0,45 µm-es fecskendőszűrőn szűrtem és a szűrletet injektáltam.

Kromatográfiai körülmények

Az elválasztást Waters Alliance 2695 HPLC-vel MN Sphinx 5 µm-es, 250 x 4,6 mm-es oszlopon végeztem, gradiens elúciót és 1% hangyasavas desztillált vizet, valamint acetonitrilt alkalmazva a 7. táblázat szerint. Az áramlási sebesség 0,7 ml/perc, az injektált mennyiség 10 µl volt. A komponensek detektálására Waters 2996 diódasoros (DAD) készüléket alkalmaztam, a kromatogramok értékelését Empower szoftverrel végeztem.

7. táblázat: Antociánok és fenolos komponensek elválasztásához alkalmazott elúciós program

Idő (perc)	1% hangyasavas desztillált víz (%)	Acetonitril (%)
0,01	98,5	1,5
5	85	15
12	85	15
20	75	25
28	50	50
30	50	50
33	98,5	1,5
35	98,5	1,5

Komponensek azonosítása és mennyiségi meghatározása

Az antociánok vizsgálatát 520 nm-es hullámhosszon végeztem. Az azonosításához és a mennyiségi meghatározáshoz szakirodalmi adatok alapján, valamint az elnyelési spektrumok és a retenciós tulajdonságok vizsgálatával végeztem az azonosítást. A csúcs alatti területek integrálásával kapott adatokat összehasonlítva a változás tendenciái jól követhetők. A fenolos komponensek vizsgálatát 355, 320 és 280 nm hullámhosszon végeztem, a komponensek azonosítására pedig standardokat alkalmaztam. Rutin standarddal a különböző hullámhosszokon kalibrációt készítettem, a komponensek mennyiségét rutin egyenértékben adtam meg.

3.5.11. γ -aminovajsav (GABA) kimutatása vékonyréteg kromatográfiával

A *Lactobacillus*-okat 1 m/V% nátrium-glutamátot (MSG) tartalmazó MRS tápvelesben szaporítottam fel 30 °C-on 24 órán keresztül. Ezen tenyészetek 1 ml-ét 2700 g-n, 10 percen keresztül centrifugáltam, a felülúszót 0,2 μ m pórusátmérőjű membránszűrőn szűrtem át. A mintákból 2 μ l-t vittem fel Hamilton fecskendővel a 20 x 20 centiméteres, 0,25 mm rétegvastagságú VRK szilikagél 60 F₂₅₄ lemezre (Merck KGaA, Germany). Kontrollként 20 μ g GABA-t oldottam fel 1 ml vízben. A lemezt n-butanol : 80% ecetsav : víz = 5 : 2 : 2 arányú elegyét tartalmazó futtatókádba helyeztem és megvártam, míg az oldószerfront eléri a végpontot. A kádból kivéve, az oldószer elpárolgását követően 2 m/V% ninhidrin oldatot permeteztem a lemezre, majd 105 °C-on 5 percig szárítószekrényben szárítottam.

3.5.12. Sejtaktivitás mérés MTT kolorimetriás módszerrel

A módszer lényege, hogy az élő sejtek mitokondriális dehidrogenáz enzimei az MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólium-bromid) tetrazólium gyűrűjét vízben oldhatatlan színes formazánná alakítja, így annak mennyisége, jól korrelálva az élő sejtek számával, kolorimetriásan meghatározható (HEGYI, 2014). A sejtek 1 ml-ét 2700 g-n, 10 percig centrifugáltam, majd a felülúszó eltávolítása után, peptonos fiziológias sóoldattal visszaoldva megismételtem a centrifugálást. A különböző sejttenyészetek optikai denzitását (OD) 630 nm hullámhosszon mérve azonos sejtsűrűségűre (OD-ra) hígítottam. A 96 lyukú ELISA-mikrotiter lemezen 200 μ l sejtsuszpenzióhoz 20 μ l MTT-t (8 mg/ml) adtam és 4 órán keresztül 37 °C-on inkubáltam. Ezt követően 40 percig 1883 g-n centrifugáltam. A felülúszót lepipettáztam, a visszamaradt formazán kristályokat 200 μ l dimetil-szulfoxiddal visszaoldottam és 20 perc ráztatás után 595 nm-en megmértem az optikai denzitást (Labsystem Titertek Multiskan Plus, Type 314).

3.5.13. Gátlás vizsgálat agar lyuk diffúziós módszerrel

Lemezöntéses módszerrel petricsészében 1 ml sejtsuszpenziót (3 log TKE/ml) körülbelül 20 ml szelektív agarral elegyítettem. A megszilárdulása után 10 mm átmérőjű agarfúróval lyukat

szűrtam és ebbe pipettáztam 50 µl-t egy másik szuszpenzióból (gyümölcslé). Ezt követően a lemezeket 30 °C-os inkubátorba helyeztem és naponta ellenőriztem az indikátor törzsek szaporodását, a gátlási zóna mértékét. Amennyiben a pipettázott szuszpenzió gátló hatást fejt ki a mikroorganizmus növekedésére, gátlási zóna alakul ki, vagyis a lyuk körül nem vagy kevesebb telepszám lesz látható, mint a lemez többi felületén. A gátlási zóna méretét, mértékét vonalzóval mértem.

3.5.14. Tárolási kísérletek

Bizonyos esetekben a fermentációt tárolási kísérlet követte, melynek során a szobahőmérsékleten (24 °C) vagy a hűtőszekrényben (6 °C) tárolt leveket több héten (narancslé 6 hét, meggy 8 hét, paradicsom 4 hét) keresztül tanulmányoztam. A mintavételezés heti rendszerességgel történt, majd a fermentációt végző törzs tulajdonságait és nyersanyagra kifejtett hatását vizsgáltam. A meggy tárolási kísérletei során a tárolási idő vagy hőmérséklet mellett a csomagolóanyag típusára is kitért a kísérlet, így a fermentált levet háromféle csomagolásban – üveg- és műanyag palackban, valamint Tetra Pak italos kartondobozban –, hűtőszekrényben elhelyezve tároltam.

3.5.15. Tejsavbaktériumok izolálása fermentált zöldségekről

A kereskedelmi forgalomban kapható (nem hőkezelt) vagy otthon, spontán körülmények között tejsavasán fermentált zöldségeken jelen lehetnek az erjedést okozó, élő tejsavbaktériumok. Ezek izolálása érdekében felállítottam egy többlépéses protokollt, ami a tejsavbaktériumokra, a *Lactobacillus* nemzetségre jellemző tulajdonságok alapján való szelektáláson alapszik.

3.5.15.1. *Cikloheximides MRS agar*

A fermentált zöldségeken lévő *Lactobacillus* törzsek elszaporítása érdekében elkevertem 1 g fermentált zöldséget, valamint a léből 1 ml-t emulgeáltam MRS táplevesben. 24 óra 30 °C-os inkubációt követően tízszeres tovaftató hígítási sort készítettem, a 4., 5., 6. tagokból cikloheximides MRS agarra 100 µl-t szélesztettem és a lemezeket 48-72 óráig 30 °C-on inkubáltam. A cikloheximid antibiotikum igen nagy gátló hatással rendelkezik számos penész, élesztő és fitopatogén gomba ellen, így szelektíven segíti a baktériumok elszaporodását a mintából. A különböző morfológiájú baktériumtelepeket oltókaccsal leszedve MRS táplevesben szaporítottam fel. Az egyéjszakás tenyészetek 1-1 ml-ét 2700 g-n 10 percig centrifugáltam, a felülúszót leöntöttem és 1 ml peptonos fiziológiás sóoldattal visszaoldottam.

3.5.15.2. *Kataláz teszt – kémcső próba*

A cikloheximides MRS agaron előszelektált, peptonos fiziológiás sóoldatban visszaoldott baktériumtenyészet 700 µl-ét 1 ml 3%-os hidrogén-peroxidhoz pipettáztam. A kataláz reakció

a hidrogén-peroxidot bontó kataláz enzim jelenlétét jelzi, mely a hidrogén-peroxidot oxigénné és vízzé bontja, így annak jelenléte esetén a reakciót pezsgés kíséri. A *Lactobacillus* nemzetségbe tartozó törzsek kataláz enzim hiányában a próbára negatívan reagálnak.

3.5.15.3. *Gram-festés – 4 lépéses festési eljárás*

A cikloheximides MRS agaron előszelektált, peptonos fiziológiás sóoldatban visszaoldott baktériumtenyészetten BD Gram-festés kit protokollja (Becton Dickinson Pty Ltd., Australia) alapján Gram-festést végeztem, ami a morfológiailag hasonló baktériumok differenciálására alkalmas módszer, ugyanis azokat a festés után két csoportba lehet sorolni. Továbbá a festésnek köszönhetően jól felismerhetővé válik a sejt alakja, mérete és annak szerkezeti részletei.

Oldatok és reagensek a mikroorganizmusok Gram festéséhez

- Gram Crystal Violet (BD)
- Jódoldat (3,3 g/l jódkristály, 6,6 g/l kálium-jodid, desztillált víz)
- Gram Decolorize (BD)
- Gram Basic Fuschin (BD)

A festést a tenyészet kenetkészítése előzi meg. Egy tárgylemezt Bunsen-égő lángja felett néhány áthúzással zsírtalanítottam, majd a peptonos fiziológiás sóoldatban emulgeált (előzőleg lecentrifugált és felülúszójától eltávolított) sejtekből 25 µl-t cseppentettem rá és levegőn hagytam megszáradni. A sejtek fixálása, kitapadása érdekében a lemezt ismét áthúztam láng felett. Az eljárás első lépése a kristályibolya oldattal (Gram Crystal Violet) való festés, melyet 1 percet követően óvatosan, hideg csapvízzel leöblítettem. Ekkor a kenetre jódoldatot pipettáztam, amit 1 perc után mostam csapvízzel. Ezt követte a differenciálás, mely során tömény alkohol oldattal (Gram Decolorize) addig öblítettem a kenetet, amíg a lecsöpögő folyadék szintelen nem lett – az alkohol ugyanis kioldja a festéket a Gram-negatív sejtekből –, majd ismét hideg csapvízzel mostam óvatosan. A 4 lépéses festési eljárás során utófestést végeztem fukszinnal (Gram Basic Fuschin). Az öblítést követően levegőn hagytam megszáradni a lemezeket, majd összetett binokuláris fénymikroszkóp alatt, immerziós olaj alkalmazása mellett vizsgáltam a sejteket. A Gram-pozitív baktériumok lilára (kristályibolya), a Gram-negatívak fukszia színűre (fukszin) festődnek.

3.5.15.4. *Brómkrezolbíboros MRS agar*

A negatív kataláz tesztet adó és Gram-pozitív festésű baktériumtenyészetből 20 µl-t brómkrezolbíboros MRS agarra cseppenttem, a lemezeket 48-72 óráig 30 °C-on inkubáltam. A savtermelésre színreakció utal, ez esetben a brómkrezolbíbor indikátor tartalmú MRS agar eredetileg bíboros színéről sárgára változik. Színváltozás, vagyis savtermelés esetén a

baktériumot tejtáplevesbe oltottam, a 30 °C-on való elszaporodást követően hűtőszekrényben (4 °C) tároltam.

3.5.16. Izolált tejsavbaktériumok vizsgálata PCR módszerrel

Az izolálási protokoll alapján kiszűrt potenciális tejsavbaktériumok *Lactobacillus* nemzetségbe való tartozásának vizsgálatát PCR módszerrel végeztem el.

3.5.16.1. *Baktériumok felszaporítása, tisztítása*

Az előzőleg, fermentált zöldségekről izolált tejsavbaktériumokat a tejtáplevesből felélesztettem, MRS táplevesben felszaporítottam, majd kétszeri átoltást követően 5 ml baktériumtenyészetet 10 percig 3500 g-n centrifugáltam. A felülúszó leöntését követően 2 ml peptonos fiziológiás sóoldatot adtam hozzá, összekeverés után ismét 10 percig centrifugáltam az adott fordulatszámom és leöntöttem a felülúszót.

3.5.16.2. *DNS izolálás Wizard módszerrel*

A kapott tiszta sejtekből 40 mg sejtömeget mértem ki. A DNS izoláláshoz Wizard® DNA Clean-up System (Promega, Madison, Wisconsin, USA) módszert alkalmaztam, melynek lényege, hogy a proteináz K enzim segítségével emésztést követően a DNS-t egy szilika gyantán megkötjük, tisztítjuk majd eluáljuk.

Oldatok és reagensek a DNS izoláláshoz

- „A” oldat (20 mM Tris-HCl, 2 mM EDTA, 1,2 % Triton X-100, 20 mg/ml lizozim, pH 7,5)
- Wizard puffer (10 mM Tris-HCl (pH 8,0), 150 mM NaCl, 2 mM EDTA, 1% SDS)
- 5 M guanidin-hidroklorid oldat (Sigma)
- 20 mg/ml proteináz K enzim oldat (Sigma)
- 80%-os 2-propanol (Merck)
- TE puffer (10 mM Tris-HCl (pH 8,0), 1 mM EDTA (pH 8,0))

A QuickGene-mini80 DNS izoláló módszerben alkalmazott, úgynevezett „A” oldat 2 ml-éhez 40 mg lizozimot mértem, melyből 160 µl-t adtam a kimért 40 mg tisztított baktériumhoz. Ezt 30 percre 37 °C-os vízfürdőbe helyeztem, félidőben megkevertetem. Ezután 860 µl Wizard puffert, 100 µl 5 M guanidin-hidrokloridot és 40 µl 20 mg/ml proteináz K enzimet pipettáztam a mintához, kevertetést követően pedig 60 °C-os rotációs inkubátorba helyeztem 3 órára. Inkubálás után 10 percig 5600 g-n centrifugáltam. A felülúszóból 500 µl-t mértem Eppendorf csőbe, amibe előzőleg 1 ml Wizard gyanta került. Kevertetés után fecskendő segítségével

minioszlopon átnyomtám, így a DNS a Wizard gyantához kötődve az oszloponban maradt. Az oszlopon lévő mintát 80%-os izopropil-alkohollal mostam, a maradék izopropanolt 5 percig 5600 g-n történő centrifugálással távolítottam el. Az oszlopon megkötött DNS minioszlopról való eluálása 100 µl 70 °C-os TE puffer segítségével, 20 percig, 5600 g-n történő centrifugálással valósult meg.

3.5.16.3. DNS koncentráció és tisztaság meghatározás

A DNS oldat koncentrációját és tisztaságát Colibri műszerrel (Titertek-Berthold, Berthold Detection Systems GmbH, Pforzheim, Németország) határoztam meg. A koncentráció mérése TE puffer vak használata mellett történt. A DNS-oldat tisztaságáról a 260 és 280 nm hullámhosszon mért értékek hányadosából képzett R érték ad információt. Amennyiben az abszorbancia hányados 1,7-2,0 közötti, az extrahált DNS oldat megfelelő tisztaságú. Ha ez az érték 1,7-nél kisebb, az extrahált oldat fehérjével szennyezettnek tekinthető, míg a 2,0-nél nagyobb abszorbancia hányados DNS jelenlétére utal.

3.5.16.4. Polimeráz láncreakció (PCR)

A DNS koncentráció és tisztaság meghatározást követően a mintákat 20 ng/µl-re hígítottam. A *Lactobacillus*-ok szelektív kimutatására alkalmas primer párt (8. táblázat) a szakirodalomban ismertett szekvencia információk alapján szintetizáltattam (Invitrogen™). Az egyszálú templát DNS sokszorozásához alkalmazott PRC-reakció paraméterek a 9. táblázatban láthatók. Ennek értelmében a PCR eljárás során 33 ciklus (egy ciklus lépései a denaturáció, a primer kötés és a DNS lánchosszabbítás) követi egymást, míg legutolsó lépésként a 4 °C-ra történő visszahűtés szükséges az enzim működésének leállása érdekében. A PCR reakciót a Biometra TOne (Analytik Jena AG, Jena, Németország) gradiens PCR készülékkel végeztem.

8. táblázat: *Lactobacillus*-ok szelektív kimutatásához használt primerek (SINGH & RAMESH, 2008)

Primer neve	Primer szekvenciája
IFL	5'-AGAAGAGGACAGTGGAAC-3'
IFR	5'-TTACAAACTCTCATGGTGTG-3'

PCR reakcióelegy összetétele

- 3 µl templát DNS (20 ng/µl)
- 1,5 µl forward primer
- 1,5 µl reverse primer
- 12,5 µl Dream Taq DNS polimeráz
- 6,5 µl MQ (PCR steril víz)

9. táblázat: A *Lactobacillus*-ok szelektív kimutatására alkalmazott PCR-reakció paraméterei (HEGYI, 2014)

Kettős szálú DNS szétválása	Denaturáció	Primer kapcsolódás	DNS átíródás	Extenziós szakasz	Enzimműködés leállása
94 °C 3 perc	94 °C 30 mp	59 °C 30 mp	72 °C 40 mp	72 °C 3 perc	4 °C
33 ciklus					

3.5.16.5. Gélelektroforézis

A PCR reakció során keletkezett különböző hosszúságú DNS-fragmentumokat nagyság szerint gélelektroforézissel lehet elválasztani egymástól. A vizsgálat során FlashGel™ (Lonza Rockland, Inc., ME, USA) rendszert alkalmazva szeparáltam az amplifikált fragmentumokat. A rendszer előnye, hogy 5-15 perc alatt képes a DNS méret szerinti elválasztására. Az előre gyártott gélkazetták segítségével, melyek agaróz gélt, gélfestéket és puffert is tartalmaznak, gyorsra és egyszerűvé válik a DNS elválasztása. Ezen kívül nagy előnye, hogy a fragmentumok mozgását az elektroforézis közben egy kamera és számítógép segítségével tudjuk követni, valamint 5-20-szor nagyobb érzékenységgel bír, mint az etídium-bromidos módszer. A DNS-fragmentumok 5 µl-éhez 1 µl festéket adtam, majd összekeverés után ezekből 5-5 µl került felvitelre a gélezsekbe. Az elektroforézis 7 percen át 200 V állandó feszültség mellett történt.

Reagensek, kész gélek a gélelektroforézishez

- FlashGel™ DNA kazetta 2,2% agaróz 12+1 zseb
- GeneRuler™ 100 bp Plus DNS létra (50/100/150/200/300/500/800/1500 bp)

3.6. Kísérlettervezés, statisztikai módszerek

3.6.1. One-way ANOVA

A kapott eredmények, adatok statisztikai kiértékelését IBM SPSS 24 szoftver segítségével végeztem el. Ahhoz, hogy megtudjam, van-e hatása a tényezőnek (kezelés vagy csoport, X) a célváltozóra (Y), pontosabban annak átlagértékére, illetve vannak-e különbségek az egyes kezelések, kezelés-kombinációk, csoportok között, egytényezős varianciaelemzést (one-way ANOVA-t) alkalmaztam. A statisztikailag elfogadható normalitás ($p > 0,05$) és szórás homogenitás ($p > 0,05$) feltételezése mellett a varianciaanalízishez a Tukey-féle post hoc tesztet alkalmaztam. A statisztikai eredmények a disszertáció mellékletében kaptak helyet, ahol a szürkével jelölt cellák a szignifikáns különbséget jelölik az 5% szignifikancia szinten ($p < 0,05$).

3.6.2. Taguchi kísérlettervezési módszer

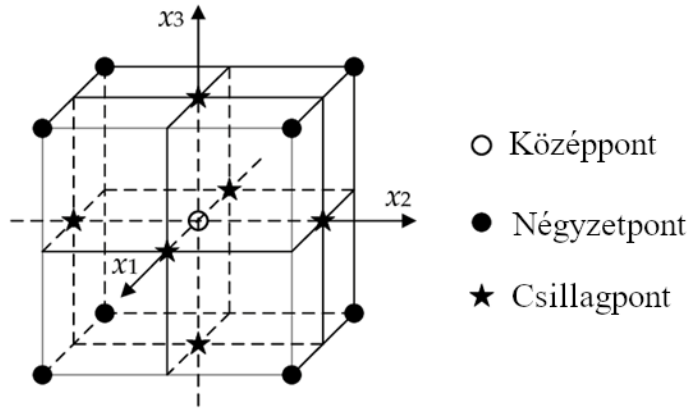
Ha a változók jelentősen befolyásolják a problémát, Taguchi kísérlettervezési módszer használata ajánlott, ami a lehető legkevesebb kísérlet lebonyolítását teszi lehetővé. Taguchi ortogonális táblázatokat dolgozott ki elsősorban a kísérleti hibák csökkentése, valamint a laboratóriumi kísérletek hatékonyságának és ismételhetőségének növelése érdekében. Ezekbe a táblázatokba a legáltalánosabbnak nevezhető faktor kombinációkat gyűjtötte össze és meghatározta, hogyan célszerű elhelyezni a fontos és kevésbé fontos hatásokat és kölcsönhatásokat. Taguchi a faktoriális kísérlettervezési módszert fejlesztette tovább és csökkentette az optimum eléréséhez vezető kísérletek számát, növelte a viszonylag egyszerűen megvizsgálható faktorok és kölcsönhatások számát (FINSZTER et al., 2014). A Taguchi kísérlettervezési módszerre a Statistica 12 (StatSoft Inc., USA) szoftvert alkalmaztam.

3.6.3. Plackett-Burman kísérleti terv

A kísérlettervezés során úgynevezett screening-re használják a III-as felbontású, Plackett-Burman kísérleti tervet (PLACKETT & BURMAN, 1946), melynek célja a szignifikáns főhatások kiszűrése (EYE et al., 2008), ugyanis a főhatások becslésére alkalmazzák. A főhatások egymással nem keverednek, feltételeznünk kell azonban, hogy keverednek a páronkénti (elsőrendű) kölcsönhatásokkal, valamint a páronkénti kölcsönhatások egymással (PÁSKU et al., 2014). A Plackett-Burman kísérleti tervre a Minitab 13 (Minitab LLC, USA) szoftvert alkalmaztam.

3.6.4. Központi elrendezésű kísérleti terv

A screening után nyert információk (a kiszűrt faktorok optimális, konstans értékre állítása után) felhasználhatók optimalizálásra, akár kvadratikus hatások jelenléte esetén is, jellemzően 2-6 faktor esetén. A kvadratikus hatások kimutatására többszintes terveket kell alkalmazni, ilyen terv például a központi elrendezésű kísérleti terv, vagyis Central Composite Design (CCD) (BOX & WILSON, 1951). A kísérletekhez 10 vizsgálatot végeztem, 4 négyzetponttal, 4 csillagponttal és a középpontban két ismétléssel (6. ábra). A középpont és csillagpontok közötti távolsághoz az $\alpha = 1,414$ tengelykülönbséget alkalmaztam. A független változók függvényében a függő változó egy (hiper)felületet, úgynevezett válaszfelületet határoz meg (BOX & HUNTER, 1957). Ezen statisztikai módszerek hatékonyak több komponens optimalizálása érdekében, valamint széles körben alkalmazottak a tápközeg komponenseinek együttes hatásának tanulmányozására fermentációk során (ANTHONY et al., 2016). A központi elrendezésű kísérleti tervre a Statistica 12 (StatSoft Inc., USA) szoftvert alkalmaztam.



6. ábra: 3 faktoros CCD sémája (4 négyzetpont, 4 csillagpont, középpontban 2 ismétléssel)
(WANG et al., 2018)

3.6.5. Túlélés analízis

A Weibull-eloszlás egy folytonos valószínűség-eloszlás, ami alkalmazható túlélés-analízisre (WEIBULL, 1951). A Weibull eloszlás paramétereit (alakparaméter (p), skálaparaméter (δ)) a Geeraerd and Van Impe Inactivation model Fitting Tool (GInaFiT, Katholieke Universiteit Leuven, Belgium) Excel bővítmény alkalmazásával határoztam meg (GEERAERD et al., 2005). A modellt a MAFART és munkatársai (2002) által leírt

$$\log \frac{N}{N_0} = - \left(\frac{t}{\delta} \right)^p$$

egyenlet írja le, ahol az N az adott (t) időpontban túlélő sejtek száma, N_0 a tárolás kezdetén mért sejtszám, t az adott időpont, a p alakparaméter, a δ skálaparaméter. Az illeszkedés jóságát az R^2 és a módosított R^2 (adjusted R^2) számításával, a modell becslésének jóságát a megfigyelt és számított értékek közötti standard eltéréssel (Root Mean Squared Error, RMSE) határoztam meg, amelynek egyenlete

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum(\text{számított} - \text{megfigyelt})^2}{n - p}}$$

ahol az n a megfigyelt adatok száma, p a becsléshez használt paraméterek száma.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

4.1. Narancslé tejsavas fermentációja

Hogy általánosabb információt kapjak a narancslé tejsavas erjedéséről, a kutatás során nyersanyagként három típusú narancslevet használtam: kereskedelmi forgalomban kapható pasztörözött narancslé sűrítmenyből (sűrítmeny), szintén kereskedelmi forgalomban kapható pasztörözött facsart narancslé (nem-sűrítmeny), továbbá frissen facsart narancslé görög Navelina narancsból (friss).

4.1.1. Előkísérlet

Az egyenként 100 ml narancslevet 24 órás *L. rhamnosus* GG kultúrával oltottam be és 30 °C-on, 48 óráig inkubáltam aerob körülmények között. A fermentáció 0., 24. és 48. órájában mintát vettem és az élősejtszám, valamint a pH változást vizsgáltam. A narancsleveket natív formában (kiegészítő tápanyagok és pH beállítás nélkül) és a *Lactobacillus*-ok szaporodásához szükséges tápanyagokkal (4 g/l élesztőkivonat, 10 g/l pepton, 30 g/l dextróz, 2 g/l dikálium-hidrogén-foszfát) kiegészítve (THE OXOID, 1976, SHORI, 2016) és beállított, $7,0 \pm 0,1$ pH-val vizsgáltam, az egyes komponenseket külön-külön és ezek bizonyos kombinációjában (10. táblázat). A fermentáció során a *Lactobacillus* élősejtszámát Miles és Misra módszerrel (MILES et al, 1938) vizsgáltam, melynek eredményeit a 10. táblázat foglalja össze. Az eredményeimből megállapítható, hogy a narancslé természetes formájában nem biztosít megfelelő környezetet a *Lactobacillus* szaporodásához. A kontrollnál (K) a frissen facsart narancslé esetében ugyan egy nagyságrendnyi növekedést tapasztaltam, ellenben a nem-sűrítmeny kontroll csoportjánál, 48 órás fermentációs idő elteltével sejtszám csökkenést mértem. Az ajánlott élő probiotikus sejtszám elérése érdekében ezért bizonyos kiegészítő tápanyagok hozzáadása, paraméterek beállítása indokolt. A narancslé, a savas pH és az antimikrobiális komponensek jelenléte miatt, nem a leginkább megfelelő nyersanyag a *Lactobacillus*-ok szaporodásához (KARABIYIKLI et al., 2014), amit az előzetes kísérleteim eredményei alátámasztanak.

A *L. rhamnosus* GG jó savtűrő tulajdonsága ellenére a beállított, semleges pH pozitív hatással bírt a sejtszaporodásra. Az élesztőkivonat hozzáadás önmagában nem eredményezett nagyobb élősejtszámot a narancslében, pH beállítással együttesen azonban további növekedést sikerült elérni. A minimális kiegészítésre, de maximális sejtszám elérésére törekedve a peptonnal és élesztőkivonattal való kiegészítés és beállított pH érték bizonyult a legmegfelelőbbnek, mely paraméterek beállítása mellett a kezdeti 7 log TKE/ml sejtszámról kiindulva már a 24 órás fermentációt követően elérte a kívánt 9 log TKE/ml élősejtszámot mindhárom fajta narancslében. Ezen adatok alapján 30 °C-on a 24 órás fermentáció elegendőnek bizonyult.

10. táblázat: *L. rhamnosus* GG sejtszám (log TKE/ml) változás a fermentáció során a különböző tápanyagokkal kiegészített és/vagy pH állított narancslében

Kiegészítés	Friss			Sűrítmény		Nem-sűrítmény	
	0 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
K	7,467	7,575	8,465	7,467	7,888	7,467	6,407
pH	7,467	8,611	9,260	8,190	8,732	8,360	8,790
ÉK	7,467	6,515	7,338	8,497	8,820	8,127	6,658
ÉK+pH	7,467	9,188	9,423	9,127	9,358	9,009	8,715
ÉK+pH+D	7,467	9,134	9,297	9,410	9,389	9,114	9,097
ÉK+pH+F	7,467	9,246	9,387	9,433	9,441	9,021	9,196
ÉK+pH+D+F	7,467	9,255	9,303	9,356	9,332	8,908	9,100
P	7,467	9,079	9,267	8,940	9,299	8,593	8,798
P+pH	7,467	8,888	8,932	9,305	9,362	9,049	9,137
P+ÉK	7,467	9,146	8,996	8,980	9,272	8,778	8,867
P+ÉK+pH	7,467	9,286	9,114	9,436	9,538	9,371	9,286
P+ÉK+pH+D	7,467	9,439	9,292	9,455	9,452	9,290	9,173
P+ÉK+pH+F	7,467	9,548	9,316	9,453	9,490	9,301	9,185
P+ÉK+pH+D+F	7,467	9,584	9,270	9,346	9,433	9,173	9,134

K: kontroll, pH: beállított pH (7), ÉK: élesztőkivonat (4 g/l), P: pepton (10 g/l), D: dextróz (30 g/l), F: dikálium-hidrogén-foszfát (2 g/l)

A narancslében lévő *Lactobacillus*-ok aktivitását jól prezentálja a narancslé pH változása (M2.1. táblázat). A csak élesztőkivonattal való kiegészítéskor az eredetihez viszonyítva pH emelkedést mértem a fermentált narancslében, míg a pH beállításakor 2 – 3 értékkel való csökkenést tapasztaltam a kiindulási, 7-es pH-hoz képest. Pepton és élesztőkivonat hozzáadásával és neutrális kiindulási pH mellett pedig, a megfelelő savtermelés eredményeképpen, a pH 3,6 – 4,0 között alakult. Az érzékszervi bírálatok alapján – a kielégítő organoleptikus tényezők megléte ugyanis igen fontos tényező élelmiszerfejlesztéskor – azonban a pepton nem tartottam érdemesnek hozzáadni a narancsléhez, így azt a további kísérletekben mellőztem.

11. táblázat: Az egyes komponensek hatása a sejtszaporodásra narancslében (Plackett-Burman kísérleti terv)

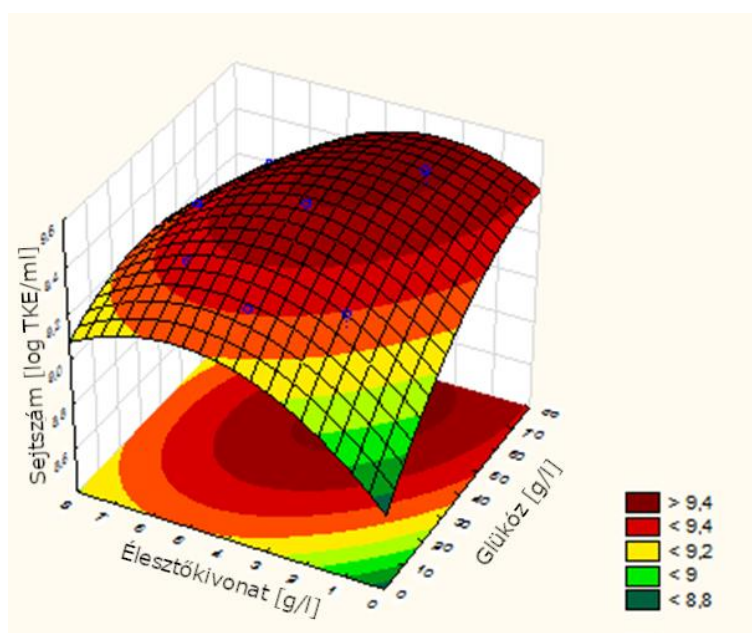
Komponens	Hatás	t-érték	P	Konfidencia (%)
Dextróz	0,2677	1,4	0,256	74,4
Pepton	0,4637	2,42	0,094	90,6
Élesztőkivonat	0,3803	1,99	0,141	85,9
Foszfát	0,2667	1,39	0,258	74,2

A sűrítmenyből készült narancslevet alapul véve, a kiegészítő tápanyagok meghatározását Plackett-Burman kísérleti tervvel valósítottam meg. A 11. táblázatban láthatóak az egyes komponensek hatásai, ahol minél nagyobb a hatás érték, a t-érték és a konfidencia %, illetve

minél kisebb a p-érték, annál nagyobb hatással bír a sejtszaporodásra. Az eredmények alapján látható, hogy a sejtszaporodásra legnagyobb hatással a pepton és az élesztőkivonat volt. Emellett azonban a dextróz és a foszfát hatása sem elhanyagolható, hiszen egyes kutatások azt találták, hogy már a 70%-nál nagyobb konfidenciaszint (azaz $p < 0,3$) is elfogadható és jelentős hatást jelez (LIU & TANG, 2010). A sejtszám növekedés érdekében végül az élesztőkivonatot választottam nitrogénforrásként, ami a hozzáadott dextróz és beállított pH mellett hasonlóan nagy *Lactobacillus* sejtszámot eredményezett.

4.1.2. Kiegészítő tápanyagok koncentrációinak optimalizációja

Az élősejtszám maximalizálása céljából központi elrendezésű kísérleti tervvel, a dextróz és élesztőkivonat koncentrációját alkalmazva független változókként, meghatároztam a polinomiális egyenlet által létrehozott válaszfelület segítségével a szaporodás (maximális sejtszám) függvényében ezen változók optimális értékeit. Az alkalmazott élesztőkivonat és dextróz koncentrációkat, valamint a fermentáció során elért LGG élősejtszámot a 12. táblázat mutatja be. A sűrítményből készült narancslé eredményei alapján (7. ábra) megállapítható, hogy semleges pH mellett az eredetileg használt élesztőkivonat mennyiségének fele (2 g/l) is elegendő, ha a dextróz mennyiségét megnöveljük (60 g/l), ezzel érve el a 24 órás fermentáció során a legnagyobb *Lactobacillus* sejtszámot (9,555 log TKE/ml).



7. ábra: Válaszfelület diagram, a hozzáadott élesztőkivonat (g/l) és dextróz (g/l) koncentrációjának együttes hatása a *L. rhamnosus* GG sejtszámra (log TKE/ml) a sűrítményből készült narancslében

Ezen eredményeket adaptáltam a nem-sűrítmény és frissen facsart narancslére is, a továbbiakban pedig optimalizáltként említett narancslé esetén ezzel a mennyiségi kiegészítéssel és beállított, 7-es kiindulási pH-val dolgoztam tovább (13. táblázat).

12. táblázat: *L. rhamnosus* GG sejtszám (log TKE/ml) a sűrítmenyből készült narancslében 48 órás fermentációt követően

Élesztőkivonat (g/l)	Dextróz (g/l)				
	7,5	15	30	60	120
1,0	9,343	9,348	9,291	9,390	9,402
2,0	9,470	9,311	9,291	9,555	9,527
4,0	9,311	9,311	9,496	9,503	9,398
8,0	9,214	9,249	9,330	9,320	9,320
16,0	8,679	9,135	9,339	9,406	9,189

13. táblázat: Narancslé tejsavas fermentációjához szükséges tápanyag kiegészítések, paraméter beállítások

pH	Élesztőkivonat (g/l)	Dextróz (g/l)
7,00	2	60

4.1.3. Tárolási kísérlet

A háromfajta narancslé, LGG törzssel történő, 24 órás fermentációját követően két különböző hőmérsékleten (szobahőmérséklet, 24 °C és hűtőszekrény, 6 °C) tárolási kísérletet végeztem 4 hétig. A kontroll (kiegészítő tápanyagok és pH beállítás nélküli) és optimalizált narancslevek mellett peptonnal kiegészített és pH állított (10 g/l pepton, 30 g/l dextróz, pH 7) fermentált narancslé tárolási vizsgálatára is sor került. A kísérlet során vizsgáltam az élősejtszám, a pH, az összes oldott szárazanyag-tartalom és a titrálható savtartalom változását a narancslében (M2.2-M2.5. táblázat).

A sűrítmenyből és nem-sűrítmenyből készült narancslevek esetében a hűtőben tárolt mintáknál a *Lactobacillus* életképessége jobbnak bizonyult a kiegészített narancslében a kontrollhoz képest. A frissen facsart narancslénél viszont, a kezdeti alacsonyabb sejtszám ellenére, 4 hét után a kontrollban magasabb probiotikus élősejtszámot tapasztaltam mindkét tárolási hőmérsékleten. A tárolási kísérlet során megfigyelhető, hogy mindhárom fajta narancslében a *Lactobacillus*-ok száma a 6 °C-on végzett 4 hetes tárolás alatt csupán egy nagyságrendet (8 log TKE/ml-re) csökkent. SENGUN és munkatársai (2019) is 28 napig tároltak 4 °C-on *L. rhamnosus* törzssel inokulált narancslevet, mely a tárolás végéig megőrizte élősejtszámát, bár ebben az esetben fermentáció nem előzte meg a tárolást. A szobahőmérsékleten tartott narancslében azonban a 0 hetes eredményekhez képest átlagosan három nagyságrendnyi csökkenést detektáltam. A hozzáadott anyagoknak köszönhetően a natív és a különböző módon kiegészített narancslevek kiindulási paramétereiben nagyobb különbségeket mértem (pl. TSS, sűrítmenyből készült narancslé kontroll: 10,8%, optimalizált:

16,1%), amely különbségek jellemzően megmaradtak a fermentáció és az azt követő 4 hetes tárolási kísérlet végén is.

4.1.4. *Lactobacillus* törzsszelekció narancslére, tárolási kísérlettel

A törzsszelekció során 6 probiotikus *Lactobacillus* törzset (*L. rhamnosus* GG, *L. casei* Shirota, *L. reuteri* DSM 17938, *L. acidophilus* 150, *L. acidophilus* LA-5, *L. casei* 01) tanulmányoztam a fermentációs képesség vonatkozásában. A probiotikus, tejsavasan fermentált élelmiszer kialakítása során fontos a probiotikus élősejtszám megléte a termékben. Ennek vizsgálata kiemelkedő jelentőséggel bír, ezért 6 héten keresztül vizsgáltam, hogy a fermentációt követően a meghatározott tárolási körülmények (6°C és 24 °C) miként hatnak a különböző törzsek anyagcsere-tevékenységére, életképességére a fermentált termékben. Az optimalizált narancslé fermentációjával párhuzamosan, a narancslé natív állapotában való tejsavas erjesztésére is sor került.

4.1.4.1. *Sűrítmenyből készült narancslé*

A sűrítmenyből készült narancslé esetében a tárolási hőmérsékletek és a választott törzsek között is jelentős különbséget tapasztaltam a szaporodás és életképesség tekintetében (M2.6. táblázat). A legnagyobb sejtszámot (9,692 log TKE/ml) a fermentáció során a *L. casei* 01 starterkultúráként való alkalmazása eredményezte az optimalizált tápanyag mennyiségekkel kiegészített, beállított pH-jú narancslében (14. táblázat), amely életképességét 6 hetes, hűtőszekrényben (6 °C) történő tárolást követően is megőrizte. PEREIRA és munkatársai (2011) *L. casei* élősejtszámát fermentált kesulében vizsgálták, mely 42 napig hűtőben történő tárolás esetén 8 log TKE/ml feletti volt. A kiegészítés nélküli narancslében ugyan nagyságrendben azonos sejtszámot (9,082 log TKE/ml) ért el az alkalmazott tejsavbaktérium, azonban már a harmadik héten 1-2 nagyságrendnyi csökkenés volt megfigyelhető. A kiegészítő tápanyagok létjogosultságát mutatja az LGG törzs is, mely beállított paraméterek mellett több, mint egy nagyságrenddel nagyobb élősejtszámot tartalmazott a kiegészítés nélküli narancsléhez képest. A nagy sejtszám ellenére azonban a szobahőmérsékleten tárolt optimalizált narancslé itt sem tartalmazta 6 hét elteltével az ajánlott probiotikus élősejtszámot. Ugyan a 24 órás fermentáció alatt az LGG csak az optimalizált narancslében érte el a kívánt 9 log TKE/ml sejtszámot, a szobahőmérsékleten való tárolás pozitív hatással bírt a szaporodásra a kontroll esetében. A kiegészítés nélküli narancslében közel egy nagyságrendnyi növekedést eredményezett az egy hetes szobahőmérsékleten történő tárolás. Hasonló eredményre jutottak EPHREM és munkatársai (2019) is, amikor két hőmérsékleten (4 és 25 °C), kétféle állított pH (3,3 és 3,5-3,9) mellett vizsgálták narancslében a *L. fermentum* túlélését, szaporodását. A sejtszám alapvetően stagnált, vagyis a sejtek túléltek a narancslében. A nagyobb hőmérséklet (25 °C) és pH (3,5-3,9) azonban kedvezett a *Lactobacillus* szaporodásának, 96 órás inkubációt követően jelentősen, közel 5,5 log TKE/ml-rel nőtt az élő sejtek száma. A legtöbb törzssel sikerült elérnem a kívánt 9 log TKE/ml sejtszámot az optimalizált narancslében, a statisztikai vizsgálat során azonban szignifikáns különbséget ($p < 0,05$) tapasztaltam az összes, kivéve az

L150 és Reuteri törzsek között (M2.7. táblázat). A legnagyobb sejtszámot az LGG és az LC-01 starterkultúráként történő alkalmazása során sikerült elérni a fermentáció alatt és jöllehet szignifikáns különbség volt a két törzs között, a 6. heti, hűtőszekrényben történt tárolás eredményei (9,522 és 9,591 log TKE/ml) már nem mutatnak szignifikáns különbséget. Így a tárolással egybekötött törzsszelekció során az előbb említett két törzs felel meg leginkább a probiotikus tejsavbaktériumot tartalmazó termék kialakítása szempontjából.

14. táblázat: *Lactobacillus* élősejtszám (log TKE/ml) 24 órás fermentációt követően sűrítményből készült narancslében

	LGG	Shirota	Reuteri	LA-5	L150	LC-01
K	7,905	9,086	7,742	<6,699	8,204	9,082
O	9,221	9,205	7,779	<6,699	8,612	9,692

K: kontroll, O: optimalizált (pH=7,00, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

A pH az optimalizált, fermentált levekben 3,92 – 6,08 között alakult (M2.8. táblázat), ami jelentős különbségnek mondható és ezt a statisztikai vizsgálatok is alátámasztják (M2.9. táblázat). A legnagyobb, kiugró pH értéket (6,08) az LA-5 starterkultúráként való alkalmazása eredményezte, mely narancslé összes oldott szárazanyag-tartalma (M2.10. táblázat) szintén szignifikáns eltérést mutatott a többi (kivéve a Reuteri) törzshöz képest (M2.11. táblázat). Ennek magyarázata az egyes paraméterek közötti összefüggés feltételezése, amit a Pearson-féle korreláció eredményei alátámasztanak (15. táblázat). A korreláció ez esetben az összes oldott szárazanyag-tartalom és pH között a legszorosabb (0,888). A pH a hűtőben történő tárolás során a legtöbb esetben a 4. hétre minimálisan tovább csökkent, ugyanúgy, mint fermentált trópusi gyümölcsle keverék 30 napos (hűtőszekrényben) tárolásakor, amikor átlagosan 0,3 értékkel csökkent a pH a tárolás végére (MOREIRA et al., 2017). A titrálható savtartalom tejsavra számolva viszonylag széles skálán mozgott (0,248 – 1,058 m/V%) (M2.12. táblázat), így a törzsek között általánosságban ismét a szignifikáns különbség volt jellemző (M2.13. táblázat).

15. táblázat: Pearson-féle korreláció a sejtszám, a pH, az összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) és a titrálható savtartalom (TA) között a fermentált, optimalizált, sűrítményből készült narancslében

	Sejtszám	pH	TSS	TA
Sejtszám	1,000	-0,532	-0,211	0,437
pH	-0,532	1,000	0,888**	-0,276
TSS	-0,211	0,888**	1,000	-0,289
TA	0,437	-0,276	-0,289	1,000

**korreláció szignifikáns a 0,01 szinten

4.1.4.2. Nem-sűrítvényből készült narancslé

Az adott nyersanyagra történő törzsszelekció jelentőségét támasztják alá a nem-sűrítvényből készült narancslé eredményei, aminél a Reuteri törzssel sikerült elérni a legnagyobb élősejtszámot (9,460 log TKE/ml) a fermentáció során (16. táblázat), ami szignifikáns különbséget mutat az összes törzssel szemben (M2.15. táblázat), ráadásul a hűvetárolás 6. hetére a sejtszámában csupán fél nagyságrendnyi csökkenés figyelhető meg (M2.14. táblázat). A sejtszaporodás során tapasztalt számbeli különbségek ellenére a hűvetárolás 6. hetében az L150 törzsen kívül az optimalizált, fermentált minták mindegyikében 8 log TKE/ml feletti sejtszámot mértem. Ezek az eredmények nem sokban térnek el SHEEHAN és munkatársai (2007) által tapasztaltaktól, ugyanis *L. casei*, *L. rhamnosus* és *L. paracasei* törzsek 84 napos hűtőszekrényben történő tárolását követően 7 log TKE/ml feletti sejtszámot mutattak narancslében. Hasonlóan, különböző gyümölcslevekhez hozzáadott *Lactobacillus*-ok is majdnem teljesen megőrizték életképességüket 4 °C-on a 35. napig (CHAMPAGNE & GARDNER, 2008). A szerzők kutatásaik során azt is megfigyelték, hogy az alkalmazott törzsek stabilak a gyümölcsitalban, azonban stabilitásuk függ a törzstől és a gyümölcs fajtájától is.

16. táblázat: *Lactobacillus* élősejtszám (log TKE/ml) 24 órás fermentációt követően nem-sűrítvényből készült narancslében

	LGG	Shirota	Reuteri	LA-5	L150	LC-01
K	6,925	7,342	8,037	8,139	6,925	<6,699
O	8,305	9,262	9,460	9,345	7,326	9,219

K: kontroll, O: optimalizált (pH=7,00, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

17. táblázat: Pearson-féle korreláció a sejtszám, a pH, az összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) és a titrálható savtartalom (TA) között a fermentált, optimalizált, nem-sűrítvényből készült narancslében

	Sejtszám	pH	TSS	TA
Sejtszám	1,000	-0,760**	-0,164	0,609*
pH	-0,760**	1,000	0,422	-0,942**
TSS	-0,164	0,422	1,000	-0,332
TA	0,609	-0,942**	-0,335	1,000

*korreláció szignifikáns a 0,05 szinten

**korreláció szignifikáns a 0,01 szinten

A pH-ra nem jellemző, hogy a törzsek között szignifikáns különbség lenne, csak az L150 mutat kiugróan nagy értéket a pH tekintetében (M2.16. táblázat), ami szignifikánsan is megmutatkozik (M2.17. táblázat). Az összes oldott szárazanyag-tartalomban (M2.18. táblázat) nincs szignifikáns különbség a fermentált minták között (M2.19. táblázat), míg a titrálható savtartalomnál (M2.20. táblázat) inkább a statisztikai különbség volt jellemző (M2.21. táblázat), annak ellenére, hogy a Shirota és Reuteri például statisztikai szempontból

megegyezik ($p = 1,00$). A pH és összes oldott szárazanyag-tartalom közötti korreláció ennél a narancslé típusnál kevésbé szorosnak mondható, míg a titrálható savtartalom és pH között az összefüggés sokkal nagyobb mértékű (17. táblázat).

4.1.4.3. Frissen facsart narancslé

Szintén jelentős eltérést észleltem a frissen facsart narancslevet tekintve a különböző törzsek szaporodásában a fermentáció során és életképességében a 6 hetes tárolási kísérlet alatt (M2.22. táblázat). Az LGG törzs alkalmazásakor az optimalizált tulajdonságokkal rendelkező narancslé esetében két nagyságrendnyi növekedést mértem a kiindulási sejtszámhoz képest a tejsavas erjedés alatt. Ennek ellenére a 6 hetet követően (még a hűtőszekrényben tárolt minták esetén is) az élősejtszám 7 log TKE/ml alá csökkent. Jóllehet az LA-5 starterkultúrával 24 óra alatt nem sikerült elérni a maximális sejtszámot, a szobahőmérsékleten való tárolás kedvezett a tejsavbaktérium szaporodásának, így a frissen facsart, optimalizált narancslé a 6 hetes tárolást követően is 8 log TKE/ml élősejtszámot tartalmazott. A *L. acidophilus* 150 a fermentáció során ugyan csak egy nagyságrendnyi növekedést mutatott (8 log TKE/ml), probiotikus élősejtszámát a 6 hét során az optimalizált narancslé szobahőmérsékleten és hűtőszekrényben történő tárolás esetén egyaránt megőrizte. Eredményeim ellent mondanak MOUSAVI és munkatársai (2010) által mért adatokkal, ugyanis 4 °C-on tárolt gránátalmalében a *L. acidophilus* élősejtszáma már 14 napot követően 3 nagyságrendnyit csökkent. Míg NAGPAL és munkatársai (2012) *L. plantarum* és *L. acidophilus* törzseket alkalmaztak probiotikus narancslé (és szőlőlé) előállításához, mely tejsavbaktériumok a nagy savtartalom ellenére is képesek volt megőrizni életképes sejtszámukat a gyümölcsleiben. Az optimalizált paraméterekkel rendelkező, frissen facsart narancslében, a sűrítményhez hasonlóan, az LC-01 érte el a legnagyobb sejtszámot (9,477 log TKE/ml) (18. táblázat), ami azonban statisztikai szempontból megegyezik a Shirota törzssel (9,461 log TKE/ml) (M2.23. táblázat). A 6 °C-on történő tárolás esetében a 6. héten utóbbi bizonyult jobb életképességűnek, a 0,357 log TKE/ml differencia viszont nem jelent szignifikáns különbséget. Így a frissen facsart narancslé esetében a két törzs egyaránt megfelelő starterkultúrának bizonyult a szaporodás és életképesség tekintetében.

18. táblázat: *Lactobacillus* élősejtszám (log TKE/ml) 24 órás fermentációt követően frissen facsart narancslében

	LGG	Shirota	Reuteri	LA-5	L150	LC-01
K	<6,699	7,347	6,699	<5,699	7,748	8,215
O	9,233	9,461	7,676	6,889	8,319	9,477

K: kontroll, O: optimalizált (pH=7,00, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

A különböző törzsekkel végzett fermentáció során a pH-ban (M2.24. táblázat) akár több, mint 1 érték különbséget detektáltam (3,86 – 5,13), így valamennyi törzs között a pH értékben is szignifikáns különbség mutatkozik (M2.25. táblázat). Az előbb említett kettő, kiváló szaporodást mutató *L. casei* (LC-01 és Shirota) törzssel végzett fermentáció során azonban a

narancslé pH értéke (3,99 és 3,98) is megegyezik szignifikánsan. Ami az optimalizált narancslé 24 órás fermentációs eredményeit illeti (M2.26. táblázat), az összes oldott szárazanyag-tartalomban (14,9 – 16,0%) egyik törzs sem mutat szignifikáns eltérést (M2.27. táblázat), míg a titrálható savtartalomban (M2.28. táblázat) akár háromszoros is lehet a különbség (0,468 – 1,486 m/V%), mely eltérés szignifikánsan is megmutatkozik (M2.29. táblázat). A frissen facsart, fermentált narancslénél általánosságban az egyes mért paraméterek között szoros korrelációról beszélünk (19. táblázat), ami – a nem-sűrítőanyagból készült narancsléhez hasonlóan – a pH és a titrálható savtartalom között a legerősebb (-0,904).

19. táblázat: Pearson-féle korreláció a sejtszám, a pH, az összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) és a titrálható savtartalom (TA) között a fermentált, optimalizált, frissen facsart narancslében

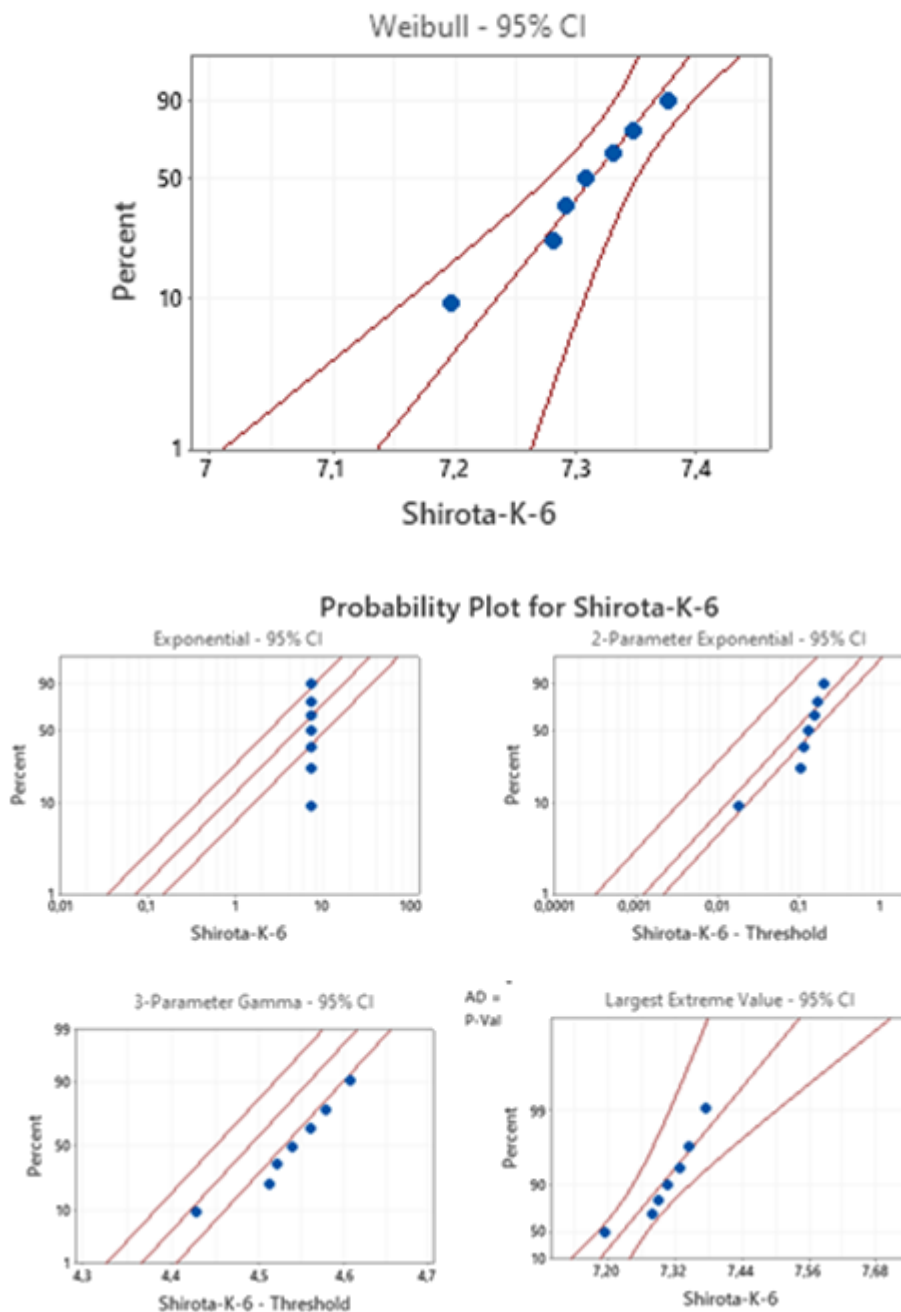
	Sejtszám	pH	TSS	TA
Sejtszám	1,000	-0,829**	-0,285	0,629*
pH	-0,829**	1,000	0,524	-0,904**
TSS	-0,285	0,524	1,000	-0,672*
TA	0,629*	-0,904**	-0,672*	1,000

*korreláció szignifikáns a 0,05 szinten

**korreláció szignifikáns a 0,01 szinten

4.1.4.4. *Lactobacillus*-ok túlélése a tárolás során

A fermentált narancslé tárolási vizsgálata során meghatároztam a starterkultúráként alkalmazott *Lactobacillus*-ok túlélését a termékben. A túlélési adatokra modellt illesztettem, amely segítette az eredmények összehasonlítását. Első lépésként a túlélés $S(t)=N(t)/N(0)$, ahol N , az adott időpontban (t) túlélő sejtek száma, $N(0)$ a tárolás kezdetén mért sejtszám) értékeire eloszlásfüggvényeket illesztettem a MINITAB 19 statisztikai szoftver segítségével (Minitab LLC, State College, Pennsylvania, USA). A 15 eloszlásfüggvény közül a valószínűségi ábrák vizuális kiértékelésére (8. ábra) és az illeszkedés jóságának összehasonlítására (20. táblázat) alapozva azt választottam, amelynél az adatpontok nem esnek a konfidencia-intervallum határain kívülre és legjobban követik az egyenest, valamint az Anderson-Darling statisztikai próbában kis értéket, valamint nagy p -értéket mutat.



8. ábra: A *L. casei* Shirota, kontroll, 6 °C (Shirota-K-6) minta friss narancslében mért túlélési adataira illesztett eloszlások valószínűségi ábrái

Hogy meghatározzam, mely törzsek őrzik meg leghosszabb ideig életképességüket a tárolás során, megvizsgáltam a 6 kiválasztott *Lactobacillus* törzs fermentált narancslében történő túlélését. A túlélés vizsgálata statisztikai szempontból nehézséget okoz, mivel olyan adatok adják az alapot, amelyek időbeli sorrendje fontos, valamint az adatsornak nem ismerjük minden tagját, így az általánosan alkalmazott paraméterek (mint az átlag és medián) számítása nem lehetséges, vagy ezek eredménye torzított lesz. A túlélési analízis célja egy túlélési függvény becslése, amely megadja, hogy egy kezdő eseménytől számítva várhatóan hogyan csökken a túlélés az idő függvényében. A túlélési analízisre speciálisan jellemző a cenzorálás, amikor a

megfigyelési időnél hosszabb idő múlva következik be az esemény, vagyis nem ismerjük a túlélés pontos idejét.

20. táblázat: A *L. casei* Shirota, kontroll, 6 °C minta friss narancslében mért adataira illesztett eloszlások illeszkedése

Eloszlás	AD	p	LRT p
Normal	0,252	0,610	
Box-Cox Transformation	0,235	0,674	
Lognormal	0,257	0,595	
3-Parameter Lognormal	0,262	*	0,846
Exponential	3,167	<0,003	
2-Parameter Exponential	1,103	0,020	0,000
Weibull	0,161	>0,250	
3-Parameter Weibull	0,161	>0,500	1,000
Smallest Extreme Value	0,161	>0,250	
Largest Extreme Value	0,483	0,208	
Gamma	0,265	>0,250	
3-Parameter Gamma	3,081	*	1,000
Logistic	0,204	>0,250	
Loglogistic	0,207	>0,250	
3-Parameter Loglogistic	0,204	*	0,870

AD: Anderson-Darling statisztika értéke, p: valószínűségi érték ($\alpha=0,05$), LRT p: likelihood-ratio teszt valószínűségi érték

A túlélés analízist eredetileg az orvostudományban alkalmazták (OHNO-MACHADO, 2001), napjainkban pedig széleskörűen használják az ipar és a szolgáltatások különböző területein is (LI et al., 2020, RUPPERT et al., 2021), de felhasználása szinte bármilyen területen megfigyelhető (BANSAL et al., 2019, LYSTAD & BROWN, 2018), ami alól a mikroorganizmusok vizsgálata sem kivétel. Korábban a mikroorganizmusok pusztulását (illetve a túlélését) logaritmus rendszerben, az idővel szemben ábrázolva, egy egyenessel írták le, amelynek meredeksége a pusztulási sebességi együtthatóval arányos, azonban a gyakorlatban a túlélési görbék alakja nem minden esetben egyenes (DEÁK, 2006). Ezt támasztja alá VAN BOEKEL (2002) kutatása is, aki megállapította, hogy a Weibull modell elég rugalmas ahhoz, hogy mind a lineáris, mind a konvex, illetve konkáv lefutású túlélési görbét modellezze. Sokan ugyanerre a következtetésre jutottak, mivel a mikrobák túlélését a mai napig többnyire a Weibull modell alkalmazásával írják le (ALBERT & MAFART, 2005, NGNITCHO et al., 2018, ZHU et al., 2021). Mivel mind a szakirodalom, mind a saját adataimra végzett eloszlás- és illeszkedés-vizsgálat is megerősítette, hogy a Weibull modell jól alkalmazható a mikrobák túlélésvizsgálatára, ezért meghatároztam a tárolás során mért adataimra a Weibull túlélési függvény paramétereit. A 21. táblázat tartalmazza a függvény alakparaméterét (p), skálaparaméterét (δ), az illeszkedés jóságát mutató R^2 és módosított R^2 (adjusted R^2) értékeit, valamint a modell becslésének jóságát jelző RMSE értéket. A táblázat

utolsó két oszlopában tüntettem fel a modell segítségével számolt $t(10^6)$ időpontot, amikor az adott mintában lévő élő sejtek száma az alá a javasolt, minimális koncentráció alá csökken, amely a probiotikus sejtek hatásának kifejtéséhez szükséges (6 log TKE/ml).

Mivel a túlélési függvény egy nem-növekvő függvény, amelynek a 0. időpillanatában a legnagyobb a túlélési valószínűsége és időben előrehaladva a függvény értéke nullához közelít, azon minták adataira, ahol a kezdeti időpillanattól növekedés figyelhető meg, illetve a megfigyelt időtartam alatt nem történt csökkenés (a sejtszám nem közelített a nullához), nem illeszthető túlélési függvény. Ezért azok a minták, amelyeknél a tárolás kezdetén növekvő sejtszámot, vagy a tárolás során érdemi csökkenést nem mértem, nem szerepelnek a túlélési modell-vizsgálatban. Az R^2 és módosított R^2 értékekből (ami többnyire 0,8 – 0,9 értéknél nagyobb) látható, hogy a modell illeszkedése jó az adatpontokra, a modell becslési jóságát jellemző RMSE értékek (ami minél alacsonyabb, annál jobb becslést jelez) pedig jellemzően 1 alattiak. Ez alapján a modell jónak mondható, az általa becsült értékek megbízhatóak. A Weibull modell mind a konvex, mind a konkáv és lineáris lefutású *Lactobacillus*-túlélési adataimra jól illeszthető volt (9. ábra), köszönhető a modell egyszerűségének és rugalmasságának, amelyet már sok esetben leírtak (CORRADINI & PELEG, 2004).

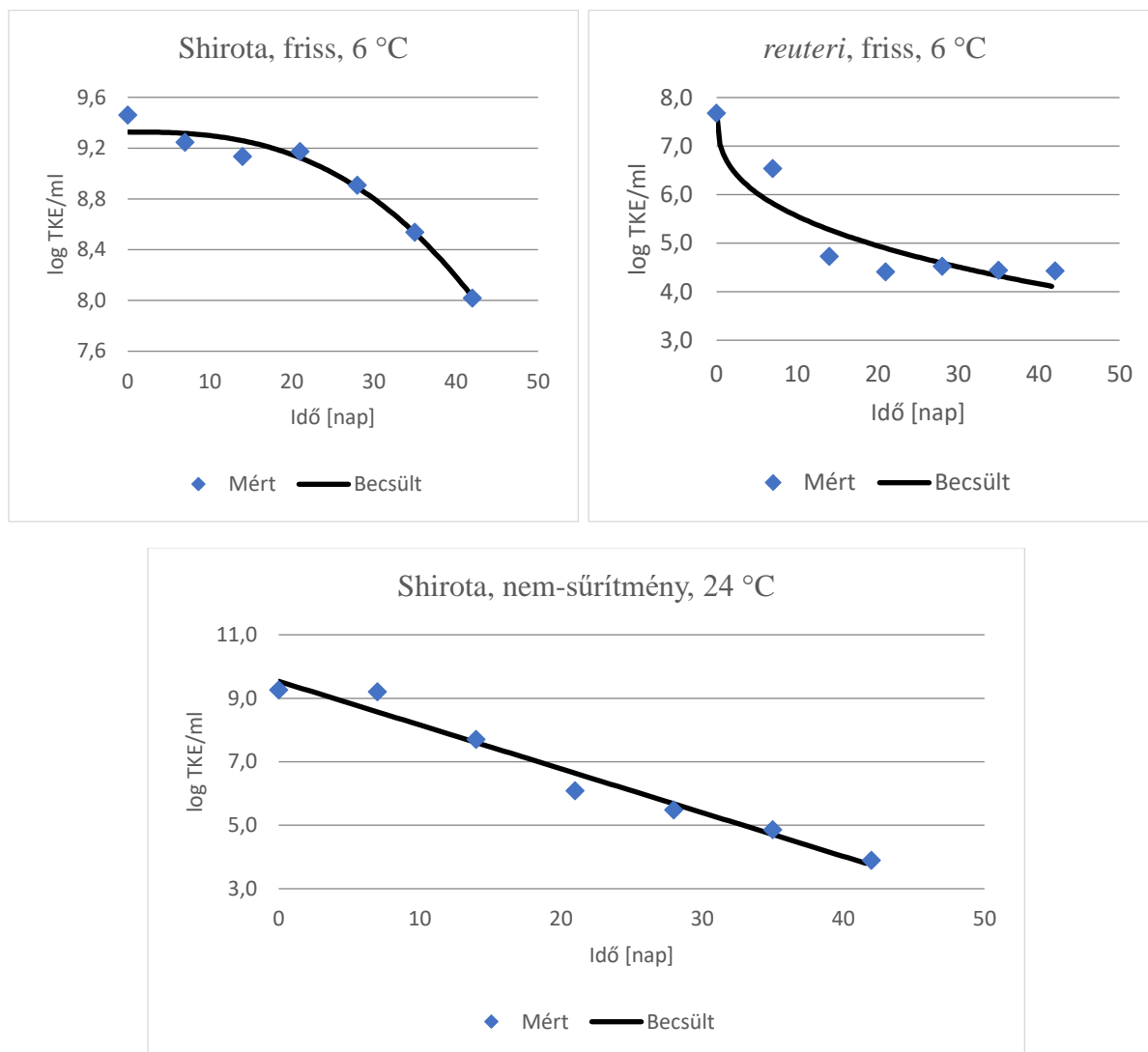
Azoknál a mintáknál, amelyeknél a korábban említettek miatt a túlélés modellezése nem lehetséges, nem tudunk következtetni a narancslében lévő sejtpopuláció túlélésére, így azokban a mintákban a tárolás 42. napján mért értéket tekinthetjük a túlélés végső időpontjának. A túlélési analízissel vizsgált minták esetén azonban a túlélés majdnem minden esetben nagyobb volt, mint 42 nap. Ez alól csak a Shirota törzs optimalizált, friss narancslében becsült túlélési ideje 24 °C-on történő tárolás mellett (38 nap), illetve az LGG törzs optimalizált, sűrítményből készült narancslében becsült túlélési ideje 24 °C-on történő tárolás mellett (40 nap) volt kivétel. Ahogy az egyes törzsek fermentáció során megfigyelt szaporodása között, úgy a túlélésében is volt különbség. A 24 °C-on tárolt friss narancslé esetén az optimalizált narancslében szaporodó L150 (116 nap), a 6 °C-on tárolt friss narancslé esetén az optimalizált narancslében szaporodó Reuteri (346 nap) él túl várhatóan leghosszabb ideig. A 24 °C-on tárolt sűrítményből készült narancslé esetén a kiegészítés nélküli narancslében szaporodó LA-5 törzs (446 nap), a 6 °C-on tárolt sűrítményből készült narancslé esetén az optimalizált narancslében szaporodó Reuteri (112 nap) él túl a becslés szerint leghosszabb ideig. Míg a 24 °C-on tárolt nem-sűrítményből készült narancslé esetén az optimalizált narancslében szaporodó LC-01 (70 nap), a 6 °C-on tárolt nem-sűrítményből készült narancslé esetén pedig a kiegészítés nélküli narancslében szaporodó Shirota (721 nap) él túl valószínűleg leghosszabb ideig.

21. táblázat: *Lactobacillus* törzsek Weibull túlélési modelljének függvényparaméterei, az illeszkedés és becslés jósága és a modell alapján a 6 log TKE/ml sejtszám és a teljes pusztulás becsült ideje (nap) az egyes mintákban, különböző tárolás során

	δ	p	R^2	R^2_{adj}	RMSE	$t(10^6)$	$t(0)$
Sűrítmény, 24 °C							
LGG-O	16,84	2,63	0,9105	0,8658	1,9229	28,24	40,23
Shirota-K	29,42	6,12	0,9733	0,9599	0,7117	34,81	41,97
Shirota-O	26,95	4,83	0,9682	0,9523	0,7539	33,07	42,17
Reuteri-K	36,19	8,29	0,8455	0,7683	0,6661	40,52	46,89
LA-5-K	18,62	0,70	0,7903	0,6854	0,3892	97,72	446,67
LA-5-O	18,16	1,74	0,9918	0,9878	0,1789	36,87	65,76
L150-O	30,76	7,01	0,9904	0,9856	0,4257	35,80	42,01
LC-01-K	11,38	0,88	0,9406	0,9109	0,3458	39,37	137,95
LC-01-O	28,85	6,01	0,9986	0,9978	0,1766	35,67	42,02
Sűrítmény, 6 °C							
Shirota-O	45,03	11,65	0,9774	0,9661	0,0309	50,02	54,58
Reuteri-K	6,85	0,84	0,9364	0,9046	0,5147	14,31	80,82
Reuteri-O	5,35	0,68	0,9556	0,9334	0,3724	13,69	112,51
LA-5-O	0,04	0,17	0,9341	0,9011	0,3791	39,85	16412,1
Nem-sűrítmény, 24 °C							
LGG-K	35,88	6,87	0,9495	0,9242	0,3089	35,10	47,48
LGG-O	32,18	3,27	0,8917	0,8376	0,3824	43,53	62,30
Shirota-K	20,92	2,20	0,8891	0,8337	0,7530	30,42	54,63
Shirota-O	7,26	1,00	0,9674	0,9511	0,4690	25,61	69,12
Reuteri-K	38,54	6,06	0,8997	0,8495	0,2552	44,71	54,82
Reuteri-O	0,51	0,48	0,6659	0,4988	2,9523	7,39	56,54
LA-5-K	44,68	8,63	0,8214	0,7321	0,1241	49,33	57,13
LA-5-O	11,55	1,34	0,9892	0,9784	0,1955	27,84	60,59
LC-01-O	30,04	2,60	0,9935	0,9903	0,0887	47,65	70,85
Nem-sűrítmény, 6 °C							
LGG-K	73,24	0,44	0,7376	0,6064	0,1950	57,80	5632,63
Shirota-K	16,89	0,53	0,9575	0,9362	0,1440	29,32	721,86
Shirota-O	46,67	7,12	0,9321	0,8982	0,0578	55,03	63,78
Reuteri-K	19,97	0,95	0,7445	0,6167	0,5227	45,23	181,25
LA-5-O	49,10	3,42	0,9221	0,8831	0,0781	69,76	94,35
L150-K	8,18	0,78	0,9172	0,8758	0,4832	4,33	92,26
L150-O	8,48	0,33	0,9069	0,8604	0,2282	19,96	3345,92
LC-01-O	25,89	0,33	0,9858	0,9787	0,0589	918,75	22759,3
Friss, 24 °C							
LGG-O	20,81	1,96	0,9913	0,9869	0,1703	37,71	64,65
Shirota-O	2,60	0,85	0,8662	0,7993	2,4804	13,11	38,35
Reuteri-K	33,10	4,14	0,6695	0,5042	0,8603	38,45	54,46
L150-O	44,23	2,21	0,8428	0,7641	0,1771	66,50	116,34
LC-01-K	34,32	3,95	0,9356	0,9033	0,2663	42,93	58,86
LC-01-O	29,64	2,75	0,9004	0,8506	0,3986	45,20	66,42

	δ	p	R^2	R^2_{adj}	RMSE	$t(10^6)$	$t(0)$
Friss, 6 °C							
LGG-K	5,35	0,55	0,9041	0,8561	0,4245	8,37	195,36
LGG-O	24,65	1,80	0,9537	0,9305	0,2633	48,08	85,23
Shirota-O	38,11	2,68	0,9718	0,9578	0,1016	59,68	87,61
Reuteri-O	1,15	0,36	0,8863	0,8295	0,5432	5,31	346,33
LC-01-O	34,08	2,8	0,9388	0,9082	0,2108	53,02	75,96

p: az eloszlási függvény alakparamétere, δ : az eloszlási függvény skálaparamétere, R^2 és módosított R^2 (adjusted R^2): az illeszkedés jósága, RMSE: a modell becslésének jósága, $t(10^6)$: 6 log TKE/ml túlélési ideje, $t(0)$: teljes pusztulás ideje, O: optimalizált (pH=7, 2 g/l élesztőkvivonat, 60 g/l dextróz) narancslé, K: kontroll narancslé



9. ábra: Weibull modell illesztése *Lactobacillus*-ok különböző lefutású túléléseire optimalizált narancslében

A probiotikumok túlélését számos esetben tanulmányozták különböző közegekben, élelmiszerekben, többnyire hűtve tárolás során, változatos időintervallumon keresztül. Megfigyelték például, hogy a *L. acidophilus* LA-5, *L. reuteri* és *L. plantarum* törzsek elősejtszáma tej és sárgarépalé keverékében hűtve tárolás során 20 napot követően is csak egy

nagyságrendnyi csökkenést mutatott (DANESHI et al., 2013). Az LGG törzs barack dzsemben 25 °C-on 45 napig túlélte, míg 5 °C-on még 78 nap után is 6 log TKE/g élősejtszámban volt jelen (RANDAZZO et al., 2013). Narancslében 4 °C-os tárolás során a *L. reuteri* egy törzsének sejtszáma csak 52 nap után csökkent egy nagyságrendet (PERRICONE et al., 2014), ugyanakkor ZHU és munkatársai (2020) is azt találták, hogy a *L. sanfranciscensis* élő sejtszáma narancslében 4 hetes 4 °C-on történő tárolás után is csak 0,18 log értékkel csökkent. A szakirodalmat tekintve a mért eredményeim és a becsült értékek nagyrésze beleillik a *Lactobacillus*-okkal kapcsolatban végzett túlélési vizsgálatok eredményeibe (NAGY & BALOGH, 2013).

A funkcionális termék szempontjából talán még fontosabb a teljes pusztulás idejénél az az időpont, amíg a probiotikumok élő sejtszáma a termékben meghaladja a probiotikus hatás kifejtéséhez javasolt 6 log TKE/ml sejtkoncentrációt. Mivel a legtöbb esetben nem lineárisak a túlélési görbék, a teljes pusztulás ideje nem ad megfelelő támpontot ennek meghatározására. Erre jó példa a 6 °C-on tárolt friss narancslé esetén az optimalizált narancslében szaporodó Reuteri, amely túlélésére 346 napot jósolt a modell, míg a mérés során a tárolás 5. napja után 6 log TKE/ml alá csökkent a sejtszáma. A 24 °C-on tárolt friss narancslé esetén az optimalizált narancslében szaporodó L150 törzs sejtszáma 66 napig, a 6 °C-on tárolt friss narancslé esetén az optimalizált narancslében szaporodó Shirota sejtszáma 59 napig marad 6 log TKE/ml koncentráció felett. A 24 °C-on tárolt sűrítményből készült narancslé esetén a kiegészítés nélküli narancslében szaporodó LA-5 törzs élősejtszáma 97 napig, a 6 °C-on tárolt sűrítményből készült narancslé esetén az optimalizált narancslében szaporodó Shirota sejtszáma 50 napig marad 6 log TKE/ml koncentráció felett a becslés szerint. Míg a 24 °C-on tárolt nem-sűrítményből készült narancslé esetén a kiegészítés nélküli narancslében szaporodó LA-5 törzs élő sejtszáma 49 napig, a 6 °C-on tárolt nem-sűrítményből készült narancslé esetén az optimalizált narancslében szaporodó LA-5 törzs sejtszáma 69 napig marad a kívánt sejtkoncentráció felett. Ezen eredmények alapján megállapítható, hogy a túlélés, a tárolás során megfelelően magas sejtszám szempontjából mind a Shirota, mind az LA-5 törzs alkalmas olyan, narancslé alapú funkcionális fermentált ital előállítására, amelyben még 50 napig is jelen van a jótékony probiotikus hatásuk kifejtéséhez szükséges élő sejtszám.

4.1.5. Prebiotikum hozzáadásának vizsgálata narancslében

A narancsléhez az élesztőkivonat (2 g/l) mellett dextróz (60 g/l) hozzáadására volt szükség a megfelelő sejtszaporodás elérése érdekében. Ebből kifolyólag vizsgáltam a dextróz helyett a hasonlóan funkcionáló inulin hozzáadását, mint prebiotikum, az esetleges szinbiotikus termék kialakítása érdekében (PERRICONE et al., 2014). Az inulin mennyiségét (54 g/l) a dextrózzal azonos szénatomszám alapján határoztam meg. Frissen facsart narancslevet két probiotikus *Lactobacillus* törzssel (LA-5 és LC-01) fermentáltam és vizsgáltam, hogy milyen hatása van a dextróz, illetve inulin hozzáadása az élősejtszámra élesztőkivonat hozzáadása (2 g/l) és pH állítás (7) mellett. A nagyobb sejtszámot a dextrózzal való kiegészítés eredményezte mindkét törzsnél, viszont a pH csökkenés a prebiotikum mellett volt a nagyobb, ezek az eltérések viszont

nem tekinthetők jelentősnek (22. táblázat). A dextrózzal vagy inulinnal kiegészített narancslé sejtszámában azonban nem volt szignifikáns különbség (LC-01 $p = 0,505$, LA-5 $p = 0,813$), így a prebiotikum alkalmazható lehet a dextróz helyett a megfelelő sejtszaporodás eléréséhez egy esetleges szinbiotikus termék kialakítása érdekében. A technológiai előnyein felül az inulin az élelmiszerekben jelentősen javíthatja az érzékszervi tulajdonságokat. Az alkalmazott 54 g/l mennyiség pedig a gyümölcskészítmények cukorpótlására alkalmazott 2 – 10 m/m% intervallumba esik (FRANCK, 2002). A szintén prebiotikumként alkalmazott galakto-oligoszachariddal (1,5%) egészítették ki narancslevet KRASAEKOOPT és WATCHARAPOKA (2014). A mikrokapszulázott *L. casei* és *L. acidophilus* törzsekkel inokulált narancslevekben a hűtőben (4 °C) történő tárolás 4. hetét követően 0,4 és 0,5 log TKE/ml-rel nagyobb élősejtszámot mértek, mint a galakto-oligoszacharid mentes kontrollban.

22. táblázat: *Lactobacillus* sejtszám (log TKE/ml) és pH változás a 24 órás fermentációt követően a különböző tápanyagokkal kiegészített frissen facsart narancslében

Kiegészítés	Sejtszám		pH	
	LA-5	LC-01	LA-5	LC-01
Élesztőkivonat	9,138	8,971	4,71	4,76
Élesztőkivonat + Dextróz	9,190	9,088	4,75	4,80
Élesztőkivonat + Inulin	9,152	9,040	4,70	4,69

4.1.6. Összegzés

Az előkísérletekből megállapítható, hogy a különböző típusú (sűrítmenyből, nem-sűrítmenyből készült, frissen facsart) narancslevek természetes formájukban nem biztosítottak megfelelő környezetet a *Lactobacillus* szaporodásához, amelynek oka lehet az alacsony pH, a *Lactobacillus*-ok szaporodásához nem megfelelő tápanyagösszetétel, illetve a narancslében található antimikrobiális komponensek hatása. Élesztőkivonat és dextróz hozzáadásával, a fermentációs paraméterek beállításával azonban sikerült biztosítani a *Lactobacillus* szaporodásához és túléléséhez szükséges ideális feltételeket narancslében. A maximális élősejtszám elérése érdekében a kiegészítő tápanyagok mennyiségi optimalizációját is elvégeztem statisztikai módszerekkel. 7,00-es pH mellett az optimális mennyiség dextrózra vonatkoztatva 60 g/l, amennyiben 2 g/l élesztőkivonatot alkalmazunk tápanyag kiegészítésként.

A nyersanyag optimalizálása mellett fontos a megfelelő probiotikus starterkultúra kiválasztása és alkalmazása a narancslé fermentációja és a kellően hosszán megőrzött probiotikus tulajdonsága érdekében. Mivel a kísérletekből megállapítható, hogy a narancslé fajtája is befolyásolja a fermentációt, a törzsek szaporodását, életképességét, ezért fontos az adott nyersanyagra történő starterkultúra szelekció. A törzsszelekció során vizsgált 6 probiotikus *Lactobacillus* törzs közül a sűrítmenyből készült narancslére nézve a *L. casei* 01 starterkultúráként történő alkalmazásával értem el a legnagyobb élősejtszámot, amely életképességét, így megfelelő élősejtszámát 6 hetes, hűtőszekrényben (6 °C) történő tárolást követően is megőrizte. A nem-sűrítmenyből készült narancslé esetében a *L. reuteri* DSM 17938

eredményezte a legnagyobb sejtszámot, mely különbség a többi törzstől a 6. héten, hűtőszekrényben történő tárolás során már szignifikánsnak tekinthető. A frissen facsart narancslé esetén a *L. casei* Shirota és a *L. casei* 01 starterkultúráként való alkalmazása egyaránt kiválónak bizonyult. A megfelelő szelekcióval tehát több hónapig eltartható termék állítható elő, mely tartalmazza az ajánlott élő probiotikus sejtszámot. Továbbá megállapítottam, hogy a Weibull modell alkalmas a *Lactobacillus* törzsek narancslében való túlélésének becslésére. A modellt alkalmazva pedig tudtam szelektálni olyan törzseket, amelyek az optimalizált paraméterekkel rendelkező narancslében kellően magas sejtszámot elérve, a tárolás során megtartják a javasolt, probiotikus hatás kifejtéséhez szükséges sejtszámot (MAGYAR ÉLELMISZERKÖNYV, 2003).

4.2. Meggy tejsavas fermentációja

Hogy általánosabb információt kapjak a meggylé tejsavas erjedéséről, a kutatás során nyersanyagként háromfajta meggyet használtam: a Petri, az Újfehértói fürtös és az Érdi bőtermő meggyfajtákat, amelyek feldolgozására a 3.3.1. fejezetben leírtak alapján került sor.

4.2.1. Előkísérlet

A fermentációs előkísérletek során a Petri és az Újfehértói fürtös fajtákból egyenként 10 ml meggylevet tartalmazó mintákat natív formában és beállított, $7,00 \pm 0,05$ pH-val vizsgáltam. Ezeket három, az anyagcsere tekintetében különböző *Lactobacillus* törzssel (*L. rhamnosus* GG (fakultatív heterofermentatív), *L. fermentum* D13 (obligát heterofermentatív) és *L. acidophilus* 150 (obligát homofermentatív)) oltottam be és 30 °C-on, 48 óráig inkubáltam aerob körülmények között. A fermentáció 0., 24. és 48. órájában mintát vettem és az élősejtszámot (23. táblázat), valamint pH változást (M3.1. táblázat) vizsgáltam.

23. táblázat: *Lactobacillus* sejtszám változás (log TKE/ml) a fermentáció során az eredeti (natív) meggylében

Meggy	<i>Lactobacillus</i>	0 h	24 h	48 h
Újfehértói fürtös	LGG	7,582	< 6,699	< 6,699
	D13	7,618	< 6,699	< 6,699
	L150	7,466	7,067	< 6,699
Petri	LGG	7,582	7,251	6,643
	D13	7,618	7,176	6,749
	L150	7,466	6,993	6,772

A körütekintő előkészítés ellenére azonban a fermentált gyümölcslemben nagy összcsíraszámot tapasztaltam, ami közrejátszhatott abban, hogy az alkalmazott *Lactobacillus* törzsek alig, vagy nem szaporodtak. A nyers meggylében jelen lévő nagy összcsíraszám miatt a feldolgozás után a meggylé pasztörözése indokolttá vált. Hogy a meggylében található hasznos komponensek a legkevésbé módosuljanak, a hőkezelés idejét és hőmérsékletét kívántam minimalizálni, ezért központi elrendezésű kísérleti tervvel, az együttes hatást figyelembe véve, meghatároztam ezen paraméterek optimális értékeit (M3.2. táblázat). A meggylé 60 °C-on, 15 percen keresztül történő hőkezelése bizonyult a leghatékonyabbnak, amely már elegendő a nyersanyagon jelen lévő csíraszám lecsökkentésére (M3.1. ábra). Ezt a pasztörözési hőmérsékletet és időt a szakirodalom „mild temperature-long time”-ként említi (AĞÇAM et al., 2018), ami minimálisan feldolgozott („minimally processed”), hosszabb ideig eltartható élelmiszerek fejlesztésére alkalmazható.

4.2.2. Nyersanyag optimalizálása

Mivel az előkísérletekből megállapítható, hogy a meggy természetes formájában nem biztosít megfelelő környezetet a *Lactobacillus* szaporodásához, a továbbiakban bizonyos paraméterek beállításának, kiegészítő tápanyagok hozzáadásának hatását vizsgáltam. Az optimalizáció során célokként azt tűztem ki, hogy a *Lactobacillus* elérje a 9 log TKE/ml sejtszámot meggylében, ennek érdekében a Petri meggyfajtát alkalmaztam modellként, aminek eredményeit adaptáltam az Újfehértói fürtös és Érdi bőtermő meggyfajtákra is.

4.2.2.1. pH és törzsadaptáció hatása a sejtszaporodásra

PERRICONE és munkatársai (2014) arról számoltak be, hogy a gyümölcslevek pH-ja és fenolos vegyületei nagy hatással voltak a *L. reuteri* sejtek életképességére. Mivel a gyümölcslevek pH értéke jellemzően kicsi (2,5 – 3,7), a *Lactobacillus*-ok optimális pH igénye viszont 5,5 – 6,2 közé esik (OLIVARES et al., 2019), a kiindulási pH pedig befolyásolja a *Lactobacillus*-ok növekedését MRS táplevesben (LIEW et al., 2005) és gyümölcslében (FONTELES et al., 2011), vizsgáltam a kiindulási pH beállításának sejtszaporodásra való hatását. A meggylevek eredeti pH-jának (3,01 – 3,34) neutrális értékre történő beállítása egy nagyságrendnyi növekedést eredményezett a sejtszámban (24. táblázat). A legnagyobb sejtszámot elérő LGG törzsszel a Petri fajta esetében a pH a kiindulási 7,00-es értékről már 24 órát követően 5,41-re lecsökkent (M3.3. táblázat).

24. táblázat: *Lactobacillus* sejtszám változás (log TKE/ml) a fermentáció során a pH (7,00) állított meggylében

Meggy	<i>Lactobacillus</i>	0 h	24 h	48 h
Újfehértói fürtös	LGG	7,582	7,905	7,913
	D13	7,618	8,007	8,154
	L150	7,466	7,966	7,888
Petri	LGG	7,582	8,277	8,163
	D13	7,618	8,154	8,115
	L150	7,466	8,249	8,167

A friss meggyben jelen lévő fenolos komponensek is hatással lehetnek a tejsavbaktériumok szaporodására. Annak ellenére, hogy ezek a fenolos vegyületek gátolhatják a *Lactobacillus* sejtszaporodást – amit már bebizonyítottak többek között áfonya (LACOMBE et al., 2013), szőlő (TABASCO et al., 2011) és olívbogyó (RUIZ-BARBA et al., 1993) esetében –, ez a negatív hatás a baktériumok előzetes nyersanyaghoz való szoktatásával kiküszöbölhető (PERRICONE et al., 2014). Ennek érdekében a meggylevet MRS táplevessel egészítettem ki különböző arányban, amit egyéjszakás LGG tenyésztéssel oltottam be és 30 °C-on, 24 óráig inkubáltam, majd az ebből nyert sejteket használtam a meggylé tejsavas erjedéséhez inokulálásként. Az élősejtszám maximalizálása céljából a pH és törzsadaptáció együttes hatását központi elrendezésű kísérleti tervvel vizsgáltam (M3.4. táblázat). Ahogy a Pareto-diagramon

látható (M3.2. ábra), a *Lactobacillus* szaporodását a független változók közül csak a pH (L, lineáris) befolyásolja, a törzsadaptációnak nincs szignifikáns hatása ($p < 0,05$). A kapott válaszfelület (M3.3. ábra) alapján megállapítottam, hogy az 5,8-as kiindulási pH bizonyul ideálisnak, így a további kísérletek során ezt a beállítást alkalmaztam.

4.2.2.2. Tápanyagkiegészítés és hígítás hatása a sejtszaporodásra

Mivel a törzsadaptáció nem volt hatással a sejtszaporodásra, a fenolos komponensek negatív hatásának kiküszöbölése érdekében a továbbiakban azt vizsgáltam, hogy a meggylé vízzel történő hígítása befolyással van-e a *Lactobacillus* szaporodására. A 25. táblázatban látható, hogy minél nagyobb mértékben tartalmazott vizet a meggy minta, annál nagyobb sejtszámot sikerült elérni a 24 órás fermentáció alatt, vagyis a hígítás pozitív tényező a proliferáció során.

25. táblázat: *L. rhamnosus* GG sejtszám (log TKE/ml) változás vízzel való hígítás (V/V) hatására a fermentáció során Petri meggylében

Meggylé (ml)	Víz (ml)	0 h	24 h
9	1	7,615	7,841
8	2	7,615	7,904
7	3	7,615	7,849
6	4	7,615	8,111
5	5	7,615	8,352

Az ajánlott élő probiotikus sejtszám elérése érdekében a továbbiakban azt vizsgáltam, hogy a *Lactobacillus*-ok szaporodásához szükséges tápanyagok – fehérje, szénhidrát – hozzáadása milyen hatással bír a sejtszaporodásra a kiindulási pH beállítása (7,00) és a meggylé hígítása (5 : 5) mellett. Az élesztőkivonat (4 g/l), pepton (10 g/l) és dextróz (20 g/l) mennyiségét az MRS tápleves összetétele (THE OXOID, 1976) alapján állapítottam meg. Eredményeimből megállapítható, hogy a meggyben lévő természetes cukrok megfelelőek a meggylé tejsavas fermentációjához anélkül, hogy dextrózzal kellene kiegészíteni, más tápanyagra – mint például élesztőkivonatra – azonban szükség van a sejtszám növelése céljából (26. táblázat). Jóllehet pepton hozzáadása mellett érte el az LGG a legnagyobb sejtszámot (9,346 log TKE/ml), a narancsléhez hasonlóan az érzékszervi bírálatok miatt nem tartottam érdemesnek azt a meggyléhez adni. Azonban az élesztőkivonat hozzáadása is hasonlóan nagy élősejtszámot (9,226 log TKE/ml) eredményezett.

Mivel a vízzel történő hígítással, valamint az élesztőkivonat hozzáadásával kellő mértékű növekedést sikerült elérni a sejtszámban, ezért ezen változók ideális értékeit (pH 5,8-as érték mellett) központi elrendezésű kísérleti tervvel optimalizáltam (M3.5. táblázat). Ahogy az a kapott válaszfelületen látható (M3.4. ábra), 3 g/l hozzáadott élesztőkivonat elegendő, ha a meggylevet vízzel egészítjük ki 6 : 4 (V/V) arányban.

26. táblázat: *L. rhamnosus* GG sejtszám (log TKE/ml) változás az egyes hozzáadott tápanyagok (g/l) hatására meggylében

Kiegészítés	Koncentráció (g/l)	0 h	24 h
Élesztőkivonat	4	7,615	9,226
Pepton	10	7,615	9,346
Dextróz	20	7,615	8,697

4.2.3. *Lactobacillus* törzsszelekció meggylére

Az előkísérletek során meghatározott fermentációs paramétereket (27. táblázat) és (30 °C-on) 24 órás fermentációs időt alkalmaztam a törzsszelekcióhoz, mely során 9 *Lactobacillus* törzset (*L. rhamnosus* GG, *L. casei* Shirota, *L. reuteri* DSM 17938, *L. acidophilus* 150, *L. acidophilus* LA-5, *L. casei* 01, *L. acidophilus* N2, *L. plantarum* 2142, *L. fermentum* DT41) tanulmányoztam a fermentációs képesség vonatkozásában.

27. táblázat: Meggy tejsavas fermentációjához szükséges paraméter beállítások

pH	Élesztőkivonat (g/l)	Hígítás (lé : víz (V/V))
5,80	3	6 : 4

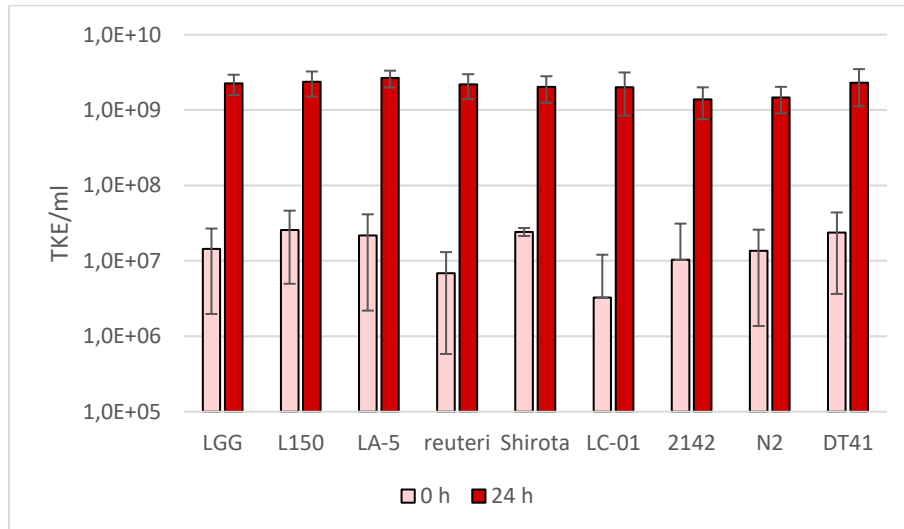
A kutatás során a törzs tulajdonságainak – mint szaporodás és metabolizmus (szerves sav tartalom) –, a nyersanyagra kifejtett hatásának (összes oldott szárazanyag-tartalom, pH) tanulmányozását, valamint a tejsavasán fermentált meggylé összes polifenol tartalom, antioxidáns és gyökfogó kapacitás mérését mikrobiológiai és analitikai módszerekkel valósítottam meg. A törzsszelekciót a Petri és az Újfehértói fűrtös fajtákra végeztem el.

4.2.3.1. Újfehértói fűrtös

Annak ellenére, hogy a törzsszelekció során alkalmazott valamennyi törzsszel sikerült elérni a kívánt 9 log TKE/ml telepszámot (10. ábra), egyes *Lactobacillus* törzsek élősejtszámában szignifikáns különbséget tapasztaltam. Az Újfehértói fűrtösnél az LA-5 eredményezte a legnagyobb sejtszámot (9,425 log TKE/ml), ami csak a 2142 és N2 törzsszel szemben bizonyult szignifikánsan nagyobbak (M3.6. táblázat).

Az Újfehértói fűrtös meggyfajta vizsgálati eredményeit (pH, TSS, TA és TSS/TA) az M3.7. táblázat foglalja össze. A pH 4,21 – 4,56 között alakult a 24 órás fermentációt követően, ami szignifikáns különbséget jelent egyes *Lactobacillus* törzsek között (M3.8. táblázat), a fermentáció és a termék fejlesztése szempontjából azonban ezt a minimális különbséget nem tekintjük jelentősnek. Jóllehet az összes oldott szárazanyag-tartalomban a legnagyobb különbség csak 0,5%, szignifikáns különbségek mutathatók ki egyes törzsek között. Jellemzően az LC-01 és N2 mutat szignifikáns eltérést a többi törzstől (M3.9. táblázat), ezek starterkultúráként történő alkalmazásakor figyeltem meg a legkisebb csökkenést az összes

oldott szárazanyag-tartalomban. A titrálható savtartalom a kiindulási 0,1743 m/V%-hoz képest jelentős növekedést mutatott, ami a fermentáció során képződő savaknak köszönhető. A törzsek titrálható savtartalma között több, mint kétszeres különbséget is mértem (0,4444 – 0,9548 m/V%), ami a legtöbb törzs között szignifikáns differenciának mondható (M3.10. táblázat).



10. ábra: *Lactobacillus* sejtszám (TKE/ml) változás a fermentáció során az Újfehértói fürtös meggyében

A törzsszelekció során az alkalmazott *Lactobacillus* törzsek tulajdonságai mellett azok nyersanyagra kifejtett hatását is érdemes figyelembe venni, hogy a fogyasztó igényeit kielégítő érzékszervi tulajdonságokat kölcsönözzenek a terméknek. A fogyasztói elfogadottság rendszerint döntő tényező a funkcionális élelmiszerek sikeres forgalmazásával kapcsolatban, a meggy-gyümölcs esetén pedig a szárazanyag-tartalom és a titrálható savtartalom aránya szoros összefüggésben van a pozitív fogyasztói elfogadással, ezért sor került a meggyevek eszerinti értékelésére is. Az irodalom szerint, ha a meggy-gyümölcs összes oldott szárazanyag-tartalmának és titrálható savtartalmának (TSS/TA) aránya nagyobb 11-nél, harmonikus ízhatást eredményez, viszont 16-nál nagyobb érték már nem természetes (PAPP et. al, 2010, GRAFE & SCHUSTER, 2014). Ennek értelmében az LGG, Shirota és Reuteri az ideális törzsek a fermentált termék kialakításához, amik az LA-5 törzshöz egyébként hasonlóan nagy sejtszámot eredményeztek. Az összes oldott szárazanyag-tartalom is hasonlóan alakult, a savtermelésben azonban jelentős különbségeket mértem, ezáltal adódtak nagyobb eltérések ebben az arányban.

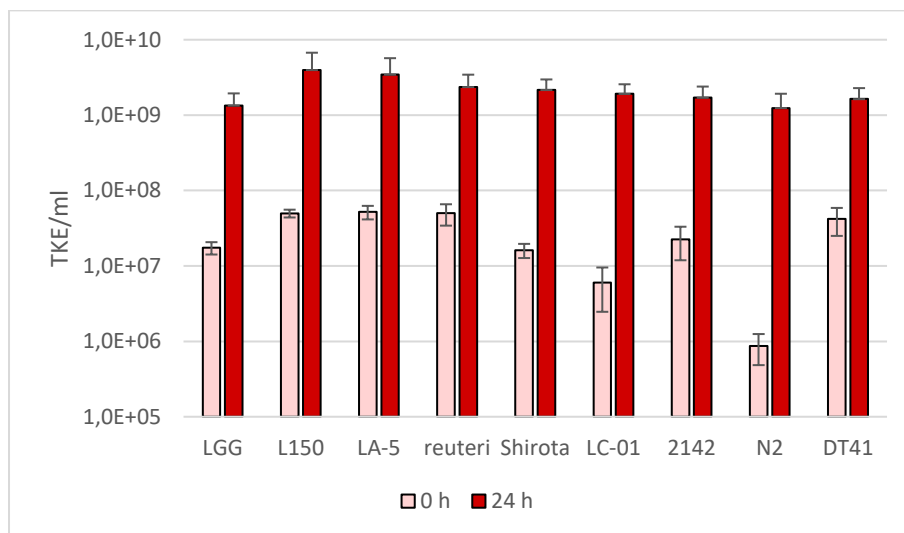
Az aktív kultúrát tartalmazó meggyevek további egészségmegőrző, betegségmegelőző hatásaként említhető, hogy a baktériumok, anyagcseretermékeik révén, számos esetben tovább növelhetik a bioaktív komponensek jelenlétét (CIRLINI et al., 2019, MUHIALDIN et al., 2020b). Az összes polifenol tartalom, az antioxidáns és a gyökfogó kapacitás eredményeit az M3.11. táblázat foglalja össze. A fermentáció végére nagy különbségeket mértem a polifenol tartalomban egyes törzsek között, ami a statisztikai vizsgálatok alapján is szignifikáns különbséget mutat, de alapvetően nem ez a jellemző (M3.12. táblázat). Ennek ellenére érdemes

szem előtt tartani, hogy míg az LC-01 és N2 polifenol csökkenést mutatott, addig az L150 közel 30%-os növekedést eredményezett a kiindulási mintához viszonyítva. Ennek magyarázata lehet, hogy a β -glükozidáz aktivitással rendelkező tejsavbaktériumok (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. fermentum*) képesek az aglikon mennyiségét növelni a fermentáció során, ami antioxidánsként hat (MARAZZA et al., 2009). Az eredményeim azt mutatják, hogy egyes *Lactobacillus*-ok alkalmazása során ugyan csökkent az antioxidáns kapacitás, az L150, LA-5, Shirota és DT41 törzsek esetében növekedést figyelhető meg a kiindulási meggyléhez képest, míg az LGG törzsszel történő fermentálás esetén az Újfehértói fürtös meggy megtartja a kiindulási antioxidáns aktivitását. Statisztikailag viszont nincs szignifikáns eltérés ebben a tekintetben a törzsek között (M3.13. táblázat). A szabad gyökfogó kapacitás a 24 órás fermentációt követően az összes alkalmazott *Lactobacillus* törzsszel növekedést eredményezett, ami akár 40%-os emelkedést is jelenthet a 0 órás mintához képest (L150). Bizonyos törzsek között azonban szingifikáns különbséget mértem: az LGG és az L150, Reuteri, DT41 törzsek közötti körülbelül 30%-os eltérés statisztikailag is jelentősnek tekinthető (M3.14. táblázat).

Az Újfehértói fürtös meggyfajtánál az antocián és polifenol tartalom mérésére is sor került. Az antociánok rendkívül instabilak, számos tényezőtől, például a hőmérséklettől, az oxigéntől, a pH-tól és az enzimektől függően képesek lebomlani. Az antociánokra jellemző, hogy a pH változásával változik a komponens által adott jel nagysága (JUNG et al., 2020). A kiindulási, beállított értékekkel rendelkező mintában, az eredeti meggyhez képest, nagy mértékben lecsökkent az antocián mennyisége (M3.15. táblázat), ami egyrészt az alapanyagként szolgáló nyers gyümölcsle hígításából, másrészt pH értékének beállításából (növeléséből) adódhat. A fermentáció során a baktériumok által termelt savak hatására ismét csökken a pH érték, ami a meggyre jellemző fő antocián összetevő, a cianidin származékok mennyiségének növekedésével jár. A két jellemző antocián mennyisége csökkent a fermentált készítményekben, az 1. származék az eredeti mintához viszonyítva ötödére, a 2. származék közel tizedére csökkent, a kiindulási beállított paraméterekkel rendelkező meggyléhez viszonyítva azonban jelentős növekedést tapasztaltam. A polifenolokat (pl. fenolsavak) erős antioxidánsoknak tekintik, de ez csak egy a sok mechanizmus közül, amelyek révén a polifenolok kifejthetik hatásukat (MATTILA et al., 2006). A fenolos vegyületek közül a flavonolokat 355 nm-en mértem, a tejsavas erjesztett meggylében a rutin és kvercetin volt detektálható (M3.16. táblázat). A rutintartalomra a növekedés volt jellemző a fermentált mintában a kiindulási (beállított, 0 órás) meggyhez képest, míg a kvercetin esetében csökkenés figyelhető meg, kivéve a 2142 törzsnél. A 320 nm-es hullámhosszon különböző fenolsavakat és azok származékait mértem (M3.17. táblázat). A meggyben legnagyobb mennyiségben előforduló hidroxifahéjsav származék a neoklorogén- és a klorogénsav (JAKOBEK & ŠERUGA, 2012). Jóllehet egy *L. plantarum* törzsszel kapcsolatban arról számoltak be, hogy képes egyes hidroxifahéjsavak (pl. kumarinsav és koffeinsav) lebontására (RODRÍGUEZ et al., 2008), az általam fermentált meggyekben a fenolsavak mennyisége, a kumarinsav származék kivételével, növekedést mutatott a kiindulási mintához viszonyítva.

4.2.3.2. Petri

A Petri meggyfajtában szintén sikerült elérni a kívánt 9 log TKE/ml sejtszámot az összes starterkultúráként alkalmazott *Lactobacillus* törzssel (11. ábra). Az adott nyersanyagra történő törzsszelekció jelentőségét bizonyítja azonban, hogy ennél a fajtánál a *L. acidophilus* 150 eredményezte a legnagyobb sejtszámot (9,598 log TKE/ml), ami szignifikáns különbségnek bizonyult a többi, kivéve a *L. acidophilus* LA-5, törzssel szemben (M3.18. táblázat).



11. ábra: *Lactobacillus* sejtszám (TKE/ml) változás a fermentáció során a Petri meggylében

A Petri eredményei az M3.19. táblázatban kaptak helyet. A pH-ban ennél a fajtánál sincsenek jelentős különbségek (4,22 – 4,43), a szélső értékeket eredményező (pl. LGG és LA-5) törzsek között azonban ezek az eltérések szignifikánsnak mutatkoztak (M3.20. táblázat). Az összes oldott szárazanyag-tartalomban fellépő minimális különbségekre nem jellemző, hogy szignifikánsak lennének (M3.21. táblázat), csak a legkisebb összes oldott szárazanyag-tartalmat eredményező LGG mutat ilyen jellegű eltérést bizonyos törzsektől. A titrálható savtartalom 0,4384 – 0,7567 m/V% között alakult, ami nem csak statisztikailag (M3.22. táblázat) jelent nagyfokú különbséget, például az LGG és L150 között. A harmonikus ízhatás kialakítása szempontjából az LGG, Shirota, LC-01 és 2142 az ideális választás a termék kialakításához, ugyanis ezek alkalmazásakor esett a TSS/TA arány 11 és 16 közé a Petri meggyfajta fermentációja során.

Alapvetően a Petrinél is növekedést figyeltem meg az összes polifenol tartalom, az antioxidáns és a gyökfogó kapacitás mérése során (M3.23. táblázat). Azonban a Reuteri és 2142 kisebbfajta, 10%-nál kevesebb csökkenést eredményezett az összes polifenol tartalomban, ezek szignifikáns eltérést mutattak a többi törzstől (M3.24. táblázat). Az antioxidáns kapacitásnál is szinte csak emelkedést tapasztaltam, a törzsek között fellépő minimális különbségek pedig általánosságban nem mondható szignifikánsnak (M3.25-26. táblázat).

4.2.3.3. *Meggyfajták összehasonlítása*

Mivel a meggy fajtája befolyásolja a fermentációt, ezért fontos az adott nyersanyagra történő starterkultúra szelekció, nevezetesen az Újfehértói fűrtösnél az LA-5 (9,425 log TKE/ml), míg a Petrinél az L150 (9,598 log TKE/ml) eredményezte a legnagyobb sejtszámot. Ezek a sejtkoncentrációk hasonlóak, amit más nagy polifenol tartalmú gyümölcslevek, mint bodza (RICCI et al., 2018, CIRLINI et al., 2019) és cseresznye (DI CAGNO et al., 2011a) fermentációja során mértek. A fermentált levek pH-jában nem mutatkozik számottevő különbség (Újfehértói fűrtös: 4,21 – 4,56, Petri: 4,22 – 4,43), a titrálható savtartalomban fellépő differenciák azonban a fogyasztói elfogadottságot befolyásolhatják, így a TSS/TA szempontjából kijelenthető, hogy mindkét meggyfajtánál az LGG és Shirota törzs felelt meg a kívánt aránynak. Az eredeti meggyek között nincs szignifikáns különbség az összes polifenol tekintetében, míg a beállított paraméterekkel rendelkező, 0 órás minták már szignifikáns különbséget mutatnak, ami azt jelenti, hogy a külső hatások (hígítás, pH beállítás) ellenére az Újfehértói fűrtös (551,56 mg GAE/kg) jobban megtartotta a fenolos komponenseit a Petri fajtához (416,67 mg GAE/kg) képest. A pH állított minták aktivitás csökkenése kétféleképpen is magyarázható, történhet a fenolok degradációja miatt, vagy a fenolok polimerizációja eredményeképpen olyan termékek képződnek, amelyek nem gátolják az α -glükózidázt (WANG et al., 2021). A fermentációt követően, annak ellenére, hogy nagy különbségek mutathatók ki, a meggyfajták és a törzsek között sem jelent szignifikáns különbséget. Azonban bizonyos törzsek esetében a polifenol jelentősen nagyobb volt a fermentáció végén, mint a kezdeti, beállított gyümölcslemben. Ez azzal magyarázható, hogy a tejsavas erjedés növelheti a fenolos vegyületek jelenlétét a gyümölcsből származó bioaktív komponensek felszabadulásával (CIRLINI et al., 2019, MUHIALDIN et al., 2020b), új fenolos vegyületek képződésével a biotranszformációnak köszönhetően (VIVEK et al., 2019), továbbá a képződő tejsav miatt kialakuló kisebb pH érték kedvez a polifenolok stabilitásának (PANDA et al., 2016). Az Újfehértói fűrtös meggy antioxidáns kapacitása a Petrihez viszonyítva szignifikáns különbséget mutat pozitív irányban, ami a kiindulási, 0 órás minta (Újfehértói fűrtös: 6,29 mM Fe(II)/kg, Petri: 4,66 mM Fe(II)/kg) és az erjesztett meggyekek esetén (Újfehértói fűrtös: 6,21 – 6,57 mM Fe(II)/kg, Petri: 5,00 – 5,65 mM Fe(II)/kg) is fennmarad. Érdekes, hogy az antioxidáns kapacitás mérések közül a FRAP módszer alapján a Petri fajtát, míg a DPPH gyök megkötésén alapuló antioxidáns kapacitás mérés eredményei szerint az Újfehértói fűrtöst célravezető választani a fermentációhoz, ugyanis ezekben a mért paraméterekben a törzsszelekció során alkalmazott mindegyik törzsszel – a 24 órás erjedést követően – növekedést mértem a kiindulási meggyeléhez képest. Mint ahogy goji gyümölcs fermentációja során mért antioxidáns kapacitás javulását tapasztalták LIU és munkatársai (2019).

4.2.4. *Tárolási kísérlet*

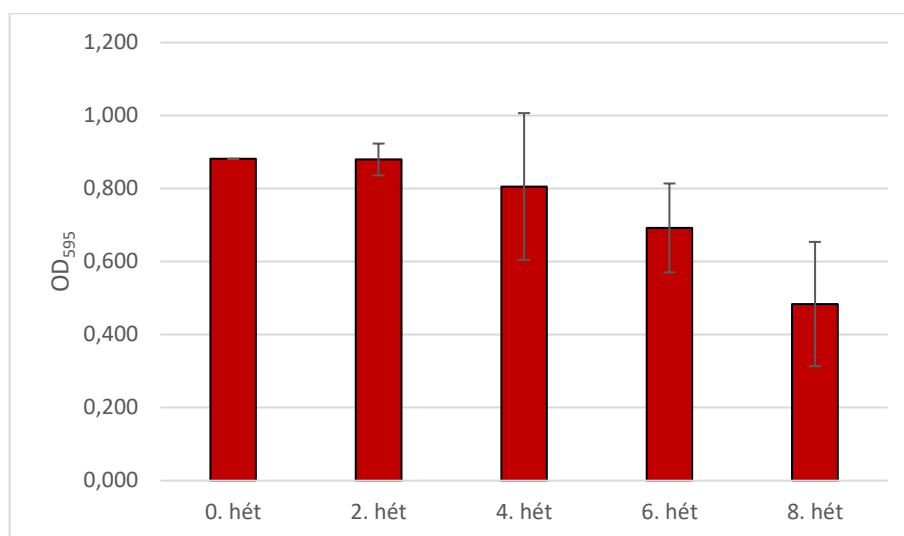
A törzsszelekciót követően 8 hetes, hűtőszekrényben (6 °C) történő tárolási kísérletet végeztem. A csomagolás különböző szempontjai, mint például a típusa és a csomagolóanyag vastagsága, gázáteresztő képessége, befolyásolhatják a probiotikumok túlélését. Az üveg például alacsony

oxigénáteresztő képességének köszönhetően elősegíti a probiotikus kultúrák túlélését (PIMENTEL et al., 2015b). Ebből kifolyólag a 24 órás fermentációt követően háromféle csomagolásban – üveg- és műanyag palackban, valamint Tetra Pak italos kartondobozban –, hűtőszekrényben elhelyezve vizsgáltam 8 héten keresztül a törzs tulajdonságait és nyersanyagra kifejtett hatását. Az Érdi bőtermő meggyfajta tejsavas erjesztéséhez az LA-5 törzset alkalmaztam – mint az Újfehértói fürtösnél az élősejtszám tekintetében leginkább megfelelő törzs –, amit az optimalizáció során megállapított fermentációs környezeti paraméterek beállítása után végeztem el. A tejsavas erjesztés során közel 9 log TKE/ml sejtszámot sikerült elérni, ami a 8. hét elteltével sem csökkent drasztikusan egyik tárolótípusban sem (28. táblázat). Ugyan heti bontásban nincs szignifikáns különbség a tárolótípusok között a sejtszám tekintetében (kivéve a 2. héten a Tetra Pak és műanyagpalack között) (M3.27. táblázat), de összességében elmondható, hogy majdnem minden héten az üvegpalackban mértem a legnagyobb sejtszámot, mely eredmény az irodalmi adatokkal megegyezik (PIMENTEL et al., 2015b).

28. táblázat: *L. acidophilus* LA-5 sejtszám (log TKE/ml) változás a tárolás során, különböző típusú csomagolóanyagban, Érdi bőtermő meggyében

	0. hét	1. hét	2. hét	4. hét	6. hét	8. hét
Üvegpalack	8,959	9,074	9,054	8,924	8,929	8,887
Műanyag palack	8,959	8,940	9,088	8,895	8,866	8,706
Tetra Pak	8,959	9,047	8,875	8,958	8,826	8,854

Jóllehet mindegyik minta tartalmazta 8 hét elteltével a 8 log TKE/ml telepszámot, érdemes vizsgálni a sejtek aktivitását a tárolás során, ugyanis a sejtaktivitás összefüggésben van a törzs probiotikus hatásával, tulajdonságával. KINOSHITA és munkatársai (2012) ugyanis pozitív korrelációt mutatott ki számos *Lactobacillus* dehidrogenáz aktivitása és a sejtek kitapadása között. A sejtaktivitás vizsgálatát dehidrogenáz enzimaktivitás mérésén alapuló kolorimetriás módszerrel végeztem el, mely alapján azonos sejtszám mellett például az üvegpalackban a 8. héten az aktivitás mértékével korreláló optikai denzitás majdnem a felére csökkent (12. ábra), vagyis feltételezhetően kevesebb posztbiotikumot tud így a baktérium termelni és akár a kitapadás mértéke sem akkora, mint a 24 órás fermentációt követően. A tárolás során fellépő pH, összes oldott szárazanyag-tartalom csökkenés, valamint titrálható savtartalom növekedés (M3.28. táblázat) összefüggésbe hozható a sejtek aktivitásával. A tárolás során a tárolótípusok között nincs szignifikáns különbség a pH (M3.29. táblázat) és a titrálható savtartalom (M3.31. táblázat) tekintetében, míg az összes oldott száraz-anyagtartalom csak az első két hétben tekinthető azonosnak, a negyedik hét eredményei már szignifikáns különbséget mutatnak (M3.30. táblázat).



12. ábra: *L. acidophilus* LA-5 sejtaktivitás változás a tárolás során az üvegpalackban tárolt Érdi bőtermő meggyében, 595 nm-en mért optikai denzitás az idő függvényében

A fermentáció során fellépő bioaktív komponens változás mellett kíváncsi voltam, hogy a tárolás hogyan befolyásolja az összes polifenol tartalmat, az antioxidáns és gyökfogó kapacitást (M3.32. táblázat). Az összes polifenol tartalomban a 6. hétig nincs jelentős különbség a tárolótípusok között, viszont az üveg- és műanyag palackokhoz képest a Tetra Pak dobozban tárolt minták kevesebb polifenolt tartalmaztak. Ennek ellenére csak a 4. és a 8. héten volt szignifikáns különbség bizonyos tárolótípusok között (M3.33. táblázat). A tejsavas fermentáció hatására (a 0 órás, kiindulási mintához képest) megnövekedett antioxidáns kapacitás volt megfigyelhető a meggyében, ami azonban a Tetra Pak csomagolásban a 8. hétre jelentősebben lecsökkent, mint az üveg- vagy műanyag palackban. Ennek ellenére a tárolás során mért antioxidáns kapacitás eredményei szignifikáns különbséget nem mutattak (M3.34. táblázat). A fermentált meggyé az üvegpalackban tárolva őrizte meg leginkább gyökfogó kapacitását, míg a Tetra Pak dobozban történő tárolás során jelentősebb csökkenés volt megfigyelhető. Mindazonáltal ezek a különbségek sem tekinthetők szignifikánsnak (M3.35. táblázat). NEMATOLLAHI és munkatársai (2016) erjesztett húsos som 28 napos hűvetárolást követően szignifikánsan kisebb értékeről számoltak be az antioxidáns kapacitás és fenoltartalom tekintetében. Ez magyarázható azzal, hogy a baktériumok aktivitása a tárolás során ezen paraméterek csökkenését okozhatják (DI CAGNO et al., 2011b). Mindazonáltal SILALAHÍ és munkatársai (2018) a hűtőben tárolt joghurtban nagyobb antioxidáns kapacitást mértek, mint a szobahőmérsékleten tárolt mintákban.

4.2.5. Összegzés

Az előkísérletekből megállapítható, hogy a különböző fajtájú (Petri, Újfehértói fűrtös, Érdi bőtermő) meggyek természetes formájukban nem feleltek meg a *Lactobacillus* szaporodásához szükséges kívánalmaknak, amelynek oka lehet a savas pH, a *Lactobacillus*-ok szaporodásához nem megfelelő tápanyagösszetétel, illetve a meggyében található fenolos vegyületek negatív

hatása. Továbbá problémát okozott a meggyen jelen lévő nagy összcsíraszám, ezért a meggyfeldolgozás után a levek pasztörözésre szorultak, aminek idejét és hőmérsékletét központi elrendezésű kísérleti tervvel optimalizáltam. A kívánt 9 log TKE/ml *Lactobacillus* sejtszám elérése érdekében a fermentációs paraméterek optimalizációját is elvégeztem statisztikai módszerekkel. Ennek értelmében 5,80-as pH mellett az optimális mennyiség élesztőkivonatra vonatkoztatva 3 g/l, amennyiben a meggylevet vízzel egészítjük ki 6 : 4 (V/V) arányban.

A törzsszelekció során vizsgált 9 *Lactobacillus* törzs közül mindkét meggyenél *acidophilus* faj, név szerint az Újfehértói fürtös meggyre nézve a *L. acidophilus* LA-5, míg a Petri fajtára a *L. acidophilus* 150 starterkultúráként történő alkalmazásával értem el a legnagyobb élősejtszámot. A termékfejlesztés során azonban érdemes szem előtt tartani a fermentáció során fellépő egyéb esetleges beltartalmi, például a bioaktív komponensekben fellépő változásokat. Ugyan a törzsekre nézve nincs szignifikáns különbség a meggyfajták között, a gyökfogó kapacitás szempontjából az Újfehértói fürtöst, míg az antioxidáns kapacitás szempontjából a Petri fajtát célravezető választani a fermentációhoz. A fogyasztói elfogadottságot befolyásoló tényezők alapján mindkét meggyfajtánál a *L. rhamnosus* GG és *L. casei* Shirota törzs felelt meg a kívánalmaknak.

Vizsgálataim alapján elmondható, hogy a megfelelő probiotikus tejsavbaktériumok alkalmazásával és azok szaporodásához szükséges feltételek megteremtésével nagy hozzáadott értékű termék kialakítására van lehetőség. Az így készült, tartósítószer-mentes funkcionális meggylé beltartalmi tulajdonságaiban sem történik lényegi változás, sőt megnövekszik a bennük található bioaktív komponensek mennyisége. Továbbá a 8 hetes tárolási eredményekből megállapítható, hogy a csomagolóanyag kis mértékben befolyásolja a probiotikumok túlélését és a fermentáció során esetleg megnövekedett bioaktív komponensek mennyiségét, ezért fontos a megfelelő tárolóanyag kiválasztása is.

4.3. Szilva tejsavas fermentációja

Hogy általánosabb információt kapjak a szilvalé tejsavas erjedéséről, a kutatás során nyersanyagként kétfajta szilvát, az Ageni és a Stanley fajtákat használtam. Ezek feldolgozására a 3.3.1. fejezetben leírtak alapján került sor. A szilván természetesen jelen lévő mikrobiális csíraszám lecsökkentésére, megszüntetésére – a meggy eredményei alapján – alkalmazott 60 °C-on, 15 percen keresztül történő pasztörözés megfelelőnek bizonyult, ezért a továbbiakban az így hőkezelt szilvalé vizsgálataira került sor.

4.3.1. Előkísérlet

Az előkísérlet során vizsgáltam, hogy a szilvalében tápanyagkiegészítés és paraméterbeállítás nélkül képes-e szaporodni a *L. rhamnosus* GG. A kétfajta szilva pH értéke (3,35 és 3,51) azonban túl kevésnek bizonyult a tejsavbaktérium szaporodásához. Az Ageni fajtában ugyan egy minimális növekedést mutatott (8,033 log TKE/ml) a kiindulási sejtszámhoz képest (7,522 log TKE/ml), a Stanleyben azonban csökkent az életképes sejtek száma (7,451 log TKE/ml), mely magyarázatot ad arra, hogy miért nem történt lényegi változás a pH-ban, a titrálható savtartalomban és az összes oldott szarazanyag-tartalomban (M4.1. táblázat).

4.3.2. Nyersanyag kiegészítésének, fermentációs paraméterek beállításának optimalizálása

Mivel a savas körülmények befolyásolják a *Lactobacillus* növekedését gyümölcsleiben (YÁÑEZ et al., 2008), a tejsavbaktérium szaporodásához szükséges megfelelő környezet megteremtését ebben az esetben is a pH beállításával kezdtem, aminek optimalizációját a hígítás hatásának vizsgálatával együtt végeztem el. Mivel a cél a szilva, mint gyümölcsfaj tejsavas erjesztése volt, az optimalizálás során a Stanley fajtára végeztem el a kísérleteket, amit a későbbiekben az Agenire is adaptáltam. Ugyan a központi elrendezésű kísérleti terv eredményei alapján sem a pH, sem a hígítás mint független változó, nem befolyásolja az LGG szaporodását szilvalében (M4.1. ábra), a kiindulási 7,464 log TKE/ml sejtszámról a legtöbb esetben sikerült egy nagyságrendnyi emelkedést elérni (M4.2. táblázat). Mivel a szilvalé : víz = 5,5 : 4,5 (V/V) hígítási arány eredményezte a legnagyobb sejtszámot még elfogadható hígítási mérték mellett, ezért a további kísérletekben ezt a hígítást alkalmaztam. Ennél a hígítási aránynál azonban a kiindulási pH 3,59 volt, ami túl savas a *Lactobacillus* megfelelő szaporodásához. Ezért, az élő sejtszám maximalizálása céljából, a továbbiakban vizsgáltam a pH, valamint (a szilva kis fehérjetartalma (FOODDATA CENTRAL, 2019) miatt) a hozzáadott élesztőkivonat hatását, az előzőekben megállapított, szilvalé : víz = 5,5 : 4,5 (V/V) arányban hígított szilvalevet alkalmazva (M4.3. táblázat). A kapott válaszfelületen (M4.2. ábra) jól látható, hogy a felületnek nincs konkrét maximum pontja, vagyis minél nagyobb a pH és a hozzáadott élesztőkivonat koncentrációja, annál nagyobb a *Lactobacillus* sejtszám. A cél ugyan a sejtszám maximalizálása, de élelmiszer-fejlesztéskor érdemes szem előtt tartani a kiegészítő anyagok minimalizálását is. Így, mivel a 9 log TKE/ml élősejtszámot a válaszfelület szerint már

6 g/l élesztőkivonat hozzáadása és a pH 6,5 értékre állítása esetén eléri, ezért a hígítás mellett ezt a kiegészítést és beállítást alkalmaztam a törzsszelekció során.

4.3.3. *Lactobacillus* törzsszelekció szilvalére

Az előkísérletek során meghatározott fermentációs paramétereket (29. táblázat) és 30 °C-on 24 órás fermentációs időt alkalmaztam a törzsszelekcióhoz, mely során 8 *Lactobacillus* törzset (*L. rhamnosus* GG, *L. casei* Shirota, *L. reuteri* DSM 17938, *L. acidophilus* 150, *L. casei* 01, *L. acidophilus* N2, *L. plantarum* 2142, *L. fermentum* DT41) tanulmányoztam a fermentációs képesség vonatkozásában. A kutatás során a törzs tulajdonságainak – mint szaporodás és metabolizmus (szerves sav termelés) –, a nyersanyagra kifejtett hatásának (összes oldott szárazanyag-tartalom, pH) tanulmányozását, valamint a tejsavasan fermentált szilvalé összes polifenol tartalom, antioxidáns és gyökfogó kapacitás mérését mikrobiológiai és analitikai módszerekkel valósítottam meg. A törzsszelekciót az Ageni és a Stanley fajtákra végeztem el.

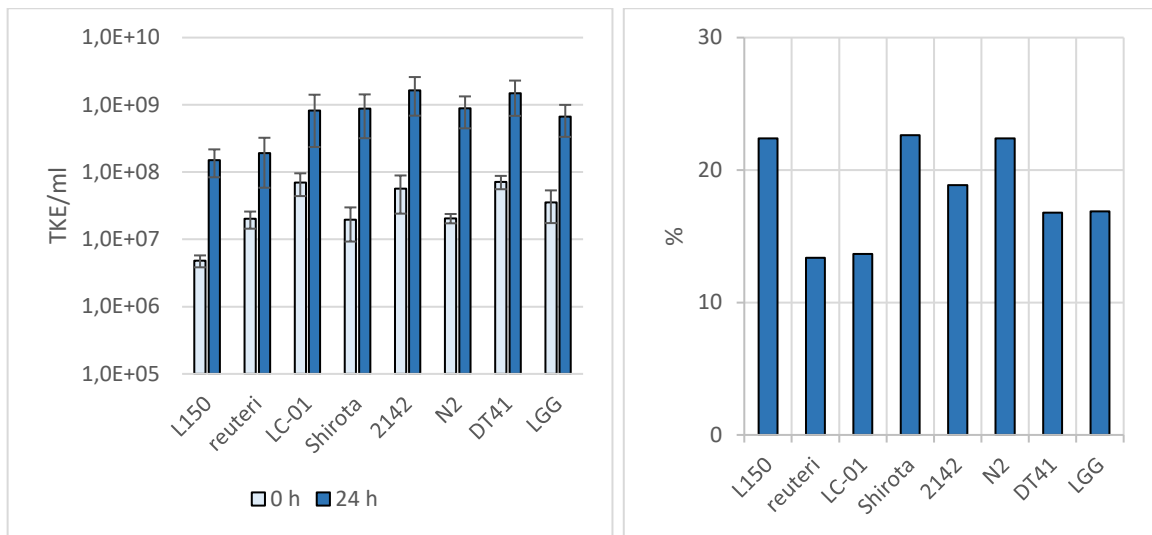
29. táblázat: Szilva tejsavas fermentációjához szükséges paraméter beállítások

pH	Élesztőkivonat (g/l)	Hígítás (lé : víz (V/V))
6,50	6	5,5 : 4,5

4.3.3.1. *Ageni*

Az Ageni szilvafajta esetében a 2142 és DT41 érte el a 9 log TKE/ml sejtszámot (13. ábra), amik statisztikai szempontból megegyeznek, a többi törzstől viszont szignifikánsan eltérnek (M4.4. táblázat). Ennél a két törzsnél azonban a kiindulási sejtszám is viszonylag nagyobb volt, ezért a megfelelő összehasonlíthatóság érdekében növekedési rátát számítottam, mely alapján az L150, Shirota és N2 mutatott (a logaritmikusan számított sejtszám esetén) legalább 20%-os növekedést.

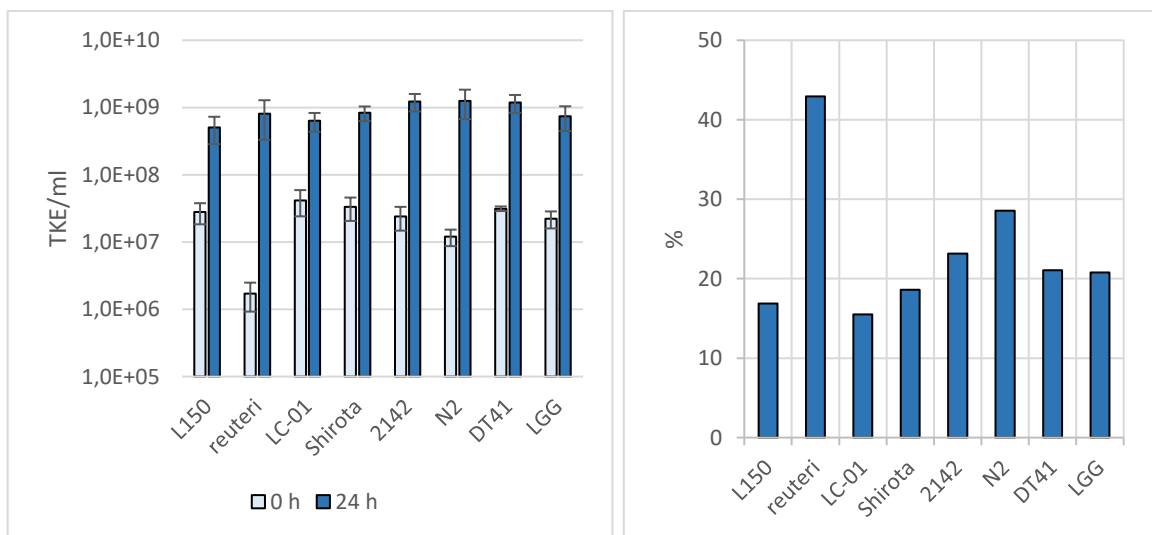
Az Ageni szilva mért eredményeit az M4.5. táblázat foglalja össze. A pH a 24 órás fermentációt követően 3,68 – 3,99 között alakult, mely minimális különbség nem szignifikáns (M4.6. táblázat). Hasonlóan az összes oldott szárazanyag-tartalomnál, ami a kiindulási 10,8%-ról 9,9 – 10,3% közé csökkent, így itt sincs szignifikáns különbség a starterkultúráként alkalmazott törzsek között (M4.7. táblázat). A titrálható savtartalomban azonban bizonyos törzsek eltérést mutatnak a többitől: míg az LC-01 kisebb, addig az LGG nagyobb savtermelést eredményezett az Ageni szilvalében és ez szignifikánsan is megmutatkozik (M4.8. táblázat). Az egyes bioaktív komponensekben, mint összes polifenol tartalom, antioxidáns kapacitás és gyökfogó kapacitás, nincs szignifikáns különbség az alkalmazott *Lactobacillus* törzsek között (M4.9-M4.11. táblázat). Ennek ellenére az összes polifenol tartalomban a fermentáció során csak három törzs (Shirota, 2142 és DT41) során mértem növekedést. Az antioxidáns kapacitás és szabad gyökfogó kapacitás viszont, az LC-01 és N2 kivételével, növekedést mutatott a 0 órás mintához képest.



13. ábra: *Lactobacillus* sejtszám (TKE/ml) változás a fermentáció során és növekedési ráta az Agenci szilvalében

4.3.3.2. Stanley

A Stanley fajtánál három törzs, a 2142, N2 és DT41 érte el a 9 log TKE/ml sejtszámot a beállított paraméterekkel rendelkező szilvalében (14. ábra), ezek azonban csak az L150, LC-01 és LGG törzsektől térnek el szignifikánsan (M4.12. táblázat). A növekedési rátát tekintve a Reuteri szaporodott el a nyersanyagban a legnagyobb mértékben, ami egyébként szintén közelítette a 9 log TKE/ml élősejtszámot (8,908 log TKE/ml).



14. ábra: *Lactobacillus* sejtszám (TKE/ml) változás a fermentáció során és növekedési ráta a Stanley szilvalében

A mért paraméterek eredményeit az M4.13. táblázat foglalja össze. A pH nagyon hasonló tendenciát mutatott a Stanley szilvában is, a kiindulási (6,52) pH 3,68 – 4,10-re csökkent, míg az összes oldott szervesanyag-tartalom 6,3 – 6,9% között alakult, azonban ezek nem mutatnak szignifikáns különbséget a törzsek között (M4.14-M4.15. táblázat). Ezen fajta esetén is a titrálható savtartalom mutatott nagyobb eltérést, nevezetesen az L150 szignifikánsan kevesebb savat termel a Stanley szilvában, mint a Reuteri, LC-01, N2 és LGG (M4.16. táblázat). Az összes polifenol tartalom mérésekor mindegyik törzs esetében csökkenést figyeltem meg, ami a legjelentősebb az LGG törzs esetén volt, ami a Reuteri, 2142, N2 és DT41 törzstől is szignifikánsan eltér (M4.17. táblázat). Ez a 27%-os csökkenés hasonló mértékű más gyümölcsök tejsavas fermentációja esetén tapasztaltakkal, például a cserimoja (csirimojó) fermentációja során mért eredményekkel (13 – 43%) (SOFIA ISAS et al., 2020). Az antioxidáns kapacitásban nincs szignifikáns különbség az alkalmazott *Lactobacillus* törzsek között (M4.18. táblázat), 1,81 – 2,10 mM Fe(II)/kg közötti értéket mértem a fermentált levekben. A DPPH módszerrel vizsgált gyökfogó kapacitásnál viszont nagyobb, akár több, mint kétszeres eltérést is eredményezhetnek a különböző törzsek (LGG: 0,56 mMTr/kg, 2142: 1,22 mMTr/kg), így például az LGG az összes, kivéve az L150 törzstől, szignifikánsan kisebb gyökfogó kapacitást eredményezett a szilvalében (M4.19. táblázat).

4.3.3.3. Szilvafajták összehasonlítása

Az Azeni szilvában a 2142 és DT41, a Stanleyben ezen két törzsön felül az N2 érte el a kívánt 9 log TKE/ml sejtszámot a beállított paraméterek mellett. Így elmondható, hogy a kétfajta szilvalében a nem bizonyítottan probiotikus *Lactobacillus* törzsek szaporodtak el jobban, ezért a későbbiekben érdemes lehet esetleg arra fókuszálni, hogy vizsgáljam ezen törzsek probiotikus voltát. Ezek a sejtszámok majdhogynem megegyeznek a PAKBIN és munkatársai (2014) által tapasztaltakkal, amit a szintén a *Prunus* alnemzetségbe tartozó őszibarackban mértek (9,049 log TKE/ml). GERARDI és munkatársai (2019) sajmeggyet (*Prunus mahaleb* L.) 25 °C-on, 20 napig fermentáltak, mely kísérlet során a *L. plantarum* törzsek 8,9 – 9,5 log TKE/ml sejtszámot értek el. Míg cseresznye 25 °C-on történő inkubációja során 36 óra elteltével érte el ezt a nagyságrendet a starterkultúráként alkalmazott kevert tenyészet (DI CAGNO et al., 2011b). Mivel a fermentációt megelőzően a pH-t 6,50±0,02 értékre állítottam, ezért a 24 órás inkubációt követően nem alakult ki számottevő különbség a két szilvafajta között a pH alakulását tekintve (Azeni: 3,68 – 3,99, Stanley: 3,68 – 4,10). A 0 órás Stanley szilva minta összes oldott szervesanyag-tartalma valamivel kisebb volt, mint amit az Azeni esetében mértem (Azeni: 10,8%, Stanley: 7,2%), de a 0 órás mintához képest való csökkenés mértéke hasonlóan alakult, mindkét esetben maximum 0,9%-kal csökkent. A kezdeti titrálható savtartalomban való különbség (Azeni: 0,1982 m/V%, Stanley: 0,1261 m/V%) általánosságban a fermentáció végére is megmarad, egyedül az L150 eredményez jelentős különbséget a két különböző szilvafajtában: a Stanleyben 0,3333 m/V%, míg az Azeni fajtában már 0,7837 m/V% a tejsavra vonatkoztatott titrálható savtartalom. A nyers szilvalevek esetében a Stanley (401,24 mg GAE/kg) szilvafajta nagyobb mennyiségben tartalmazott polifenolt, mint az Azeni (382,44 mg GAE/kg), ami azonban a fermentációs paraméterek beállításának köszönhetően (pH állítás,

hígítás, élesztőkivonat hozzáadás) nagyobb mértékben lecsökkent (Ageni: 306,11 mg GAE/kg, Stanley: 293,37 mg GAE/kg). SAHAMISHIRAZI és munkatársai (2017) 178 szilvafajtát vizsgálva igen változatos polifenol tartalmat mértek (384,5 – 8415,1 mg GAE/kg), ami alapján az Ageni és Stanley szilvalé összes polifenol tartalma az „alacsony tartományba” sorolható. Ennek ellenére bizonyos *Lactobacillus* törzsek (Shirota, 2142 és DT41) alkalmazása során növekedést mértem az Ageni szilvában a 0 órás mintához viszonyítva. A fermentációt követően az Ageni bizonyult megfelelő választásnak az összes polifenol tartalom tekintetében, ugyanis míg a Stanley az összes választott törzs esetében polifenol csökkenést mutatott, addig az Ageni szilvalében a fentebb említett törzsek növekedést eredményeztek. Ugyanakkor a gyümölcsben lévő fenolos vegyületeket és egyes szerves savakat a probiotikus mikroorganizmusok képesek gyorsan elfogyasztani, megnövelve ezáltal saját túlélésüket (OZCAN et al., 2015). Az antioxidáns kapacitás tekintetében a *Lactobacillus* törzsek különböző változást idéztek elő a fermentáció során a két fajtában, vagyis nem mondható el róluk, hogy az egyes starterkultúráként alkalmazott törzsek egyértelműen antioxidáns kapacitás csökkenést, vagy növekedést eredményeznek a szilvalében. Az Ageninél majdnem minden törzs növekedést mutat (kivéve az N2 (csökkenés) és az LC-01 (nincs változás)), a Stanley-nél viszont az LC-01 kivételével az összes csökkenést mutatott. A beállítás nélküli, eredeti szilvalevekben másfélszeres különbség volt mérhető a gyökfogó kapacitásban, mely különbség a beállításoknak köszönhetően szinte elenyészővé redukálódott. Majd a fermentációt követően az L150 esetében újra jelentős különbséget mértem (Ageni: 1,32 mMTr/kg, Stanley: 0,65 mMTr/kg), a többi alkalmazott törzsnél viszont nem tapasztaltam ekkora mértékű eltérést.

4.3.4. Összegzés

Az előkísérletekből megállapítható, hogy a különböző fajtájú (Ageni, Stanley) szilvák természetes formájukban nem biztosítottak megfelelő környezetet a *Lactobacillus* szaporodásához. A jelen lévő természetes mikroflóra lecsökkentése érdekében a szilvalevek pasztörözése (60 °C, 15 perc) szükséges. A *Lactobacillus* élősejtszám maximalizálásából kifolyólag központi elrendezésű kísérleti tervvel megállapítottam a szükséges kiegészítő tápanyagok és paraméter beállítások optimális értékeit. Így 6,50 pH mellett az ideális mennyiség élesztőkivonatra vonatkoztatva 6 g/l, amennyiben a szilvalevet vízzel egészítjük ki 5,5 : 4,5 (V/V) arányban.

A törzsszelekció során szignifikáns különbséget mértem a vizsgált *Lactobacillus* törzsek között, melyek közül az Ageni szilvára nézve a *L. plantarum* 2142 (9,215 log TKE/ml), míg a Stanley fajtára a *L. acidophilus* N2 (9,100 log TKE/ml) starterkultúráként történő alkalmazásával értem el a legnagyobb élősejtszámot, amik azonban nem igazoltan probiotikus törzsek. Vizsgálataim alapján azonban elmondható, hogy a megfelelő tejsavbaktériumok alkalmazásával és azok szaporodásához szükséges feltételek megteremtésével lehetőség van tejsavas fermentált termék kialakítására, ami tartalmazza a kívánt 9 log TKE/ml élősejtszámot. A termékfejlesztés során érdemes szem előtt tartani a fermentáció során például a bioaktív komponensekben fellépő változásokat. Általánosságban nem jellemző, hogy

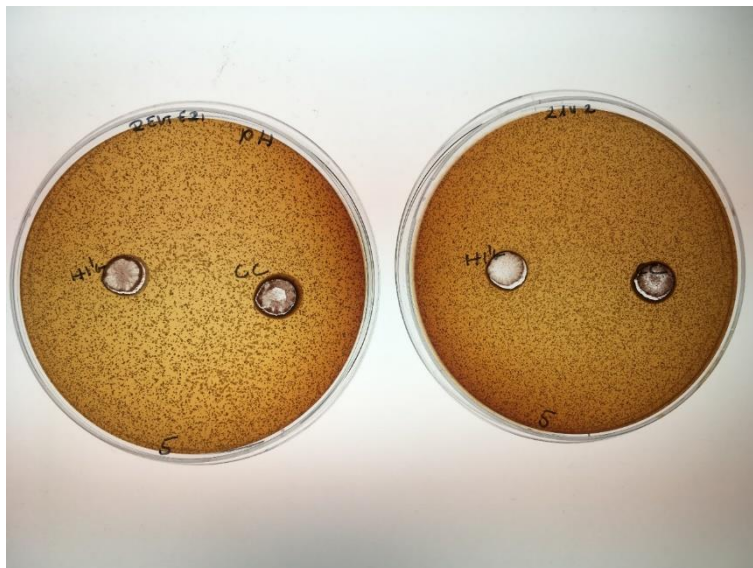
szignifikáns különbség lenne a törzsek között a mért bioaktív komponensek tekintetében. Azonban a szilvafajták közül összességében az Ageni fajtát érdemes választani tejsavas fermentációhoz, ugyanis a legtöbb esetben ennél a fajtánál mértem növekedést a bioaktív komponensek vonatkozásában.

4.4. Fekete törpeberkenye tejsavas fermentációja

A kutatás során nyersanyagként kétfajta berkenyét, a Nero és a Viking fajtákat használtam. Ezek feldolgozására a 3.3.1. fejezetben leírtak alapján került sor. Az elővigyázatos előkészületek és feldolgozás ellenére a fekete berkenyén jelen lévő természetes mikroflóra megszüntetéséhez hőkezelésre volt szükség. A meggy pasztörözésénél megállapított 60 °C-on, 15 percen keresztül történő pasztörözés megfelelőnek bizonyult a berkenyelé esetében is, ezért a továbbiakban az így hőkezelt lé vizsgálataira került sor.

4.4.1. Előkísérlet

Az előkísérleteket a Nero fajtára végeztem el a *L. reuteri* DSM 17938 törzsszel, a kapott eredményeket pedig a későbbiekben (a törzsszelekció során) a Viking berkenyefajtára is adaptáltam. Először megvizsgáltam, hogy a fekete berkenyelé önmagában alkalmas-e a tejsavbaktérium szaporodására, a 24 órás fermentációt követően azonban az élősejtszám a mérési határ alá csökkent ($< \log 6,699 \log \text{TKE/ml}$) a natív berkenyelében. Mivel az ezt követő központi elrendezésű kísérleti terv (a pH-t, a hígítást és az élesztőkivonat koncentrációját, mint független változót alkalmazva) szintén csökkenést eredményezett ($< \log 6,699 \log \text{TKE/ml}$), agar lyuk diffúziós módszerrel vizsgáltam, hogy a nagy polifenoltartalmú gyümölcsle nem gátolja-e a *Lactobacillus* szaporodását, életképességét.



15. ábra: Gátlás vizsgálata lyuk agar diffúziós módszerrel, *L. reuteri* DSM 17938 (balra) és *L. plantarum* 2142 (jobbra) törzsekre nézve

A kísérlet során lemezöntéssel petricsészében 1 ml *Lactobacillus* sejtszuszpenziót (3 log TKE/ml) körülbelül 20 ml MRS agarral elegyítettem, amibe a megszilárdulása után agarfúróval lyukat szúrtam. A lékészítés során kapott fekete berkenyéből, valamint annak tízszeres hígításából 50-50 μl -t cseppentettem az agarba szúrt lyukba, majd 48 órára inkubátorba (30 °C)

helyeztem. A szűrt lyuk körül nem alakult ki gátlási zóna, vagyis a fekete berkenyelé nem gátolta a *Lactobacillus*-ok szaporodását sem a hígított (híg), sem eredeti (cc) formájában (15. ábra).

4.4.2. MRS táplevessel kiegészített berkenye

Jóllehet a berkenyelé nem gátolta a *Lactobacillus*-ok szaporodását, az eredetileg savas pH (3,77 – 3,80) miatt pH állításra van szükség, amit ezért 6,50 értékre állítottam. Ezt követően a berkenyelevet különböző arányban elegyítettem MRS táplevessel, hogy információt kapjak arról, vajon tápanyag kiegészítés mellett képes-e szaporodni a berkenyelében a tejsavbaktérium. Minél nagyobb arányban tartalmazott MRS táplevest a fekete berkenye, annál jobban el tudott szaporodni benne az L150 törzs (30. táblázat). Azonban már 1 : 9 = MRS tápleves : fekete berkenyelé (V/V) arány esetén is a kiindulási 7,531 log TKE/ml sejtszámról egy nagyságrendnyi növekedést mértem (8,411 log TKE/ml), vagyis a pH állítás és kis mértékű tápanyag kiegészítés is pozitív hatással bír a sejtszaporodásra.

30. táblázat: *L. acidophilus* 150 sejtszám változás (log TKE/ml) a fekete berkenyelé (ml) MRS táplevessel (ml) való kiegészítésének függvényében

MRS tápleves	Fekete berkenyelé	Sejtszám
1	9	8,411
2	8	8,862
3	7	9,038
4	6	9,237
5	5	9,202

4.4.3. Taguchi kísérlettervezési módszer tápanyagkiegészítésre

Az eddig vizsgált gyümölcsök tejsavas fermentációja során kapott információk alapján vizsgáltam, pH állítás és hígítás mellett, az élesztőkivonat hatását a *L. acidophilus* 150 sejtszaporodásra, ami azonban nem eredményezett pozitív változást az élősejtszámban (< log 6,699 log TKE/ml). A Taguchi kísérlettervezési módszer azt a célt szolgálta, hogy megtudjam, milyen kiegészítő tápanyag hozzáadására van szükség a tejsavbaktérium elszaporodásához fekete berkenyelében. A kiegészítés a berkenyelé pH 6,50-re történő állítása, majd 8 : 2 = berkenyelé : víz (V/V) arányú hígítása után történt. Az M5.1. táblázatban látható a kísérleti terv 7 tápanyagra (hatásra) vonatkozóan, ami 8 kísérletet foglal magába. Az 1-es jelölésű mennyiségek a THE OXOID (1976) által meghatározott MRS tápleves összetételének a fele, míg a 2-es jelölés az 1-es ötöde (M5.2. táblázat). A kiindulási sejtszámhoz (7,744 log TKE/ml) képest egy nagyságrendnyi növekedést az az összeállítás eredményezett minden esetben, amelyik nagyobb mennyiségű pepton kiegészítést tartalmazott (M5.1. táblázatban szürkével jelölt sorok). Vagyis a 24 órás inkubációs idő után mért élősejtszám alapján a pepton, mint kiegészítés bizonyult megfelelőnek. Az eddig fermentált gyümölcsleveknél érzékszervi bírálatok alapján a pepton helyett az élesztőkivonatot választottam, a fekete berkenyénél a

sejtszámok alapján azonban az élesztőkivonat nem nyújt megfelelő alternatívát, nem eredményez hasonlóan nagy sejtszámot. A fekete berkenyelé eredeti karakteres, fanyar íze miatt azonban a hozzáadott pepton nem okoz akkora ízváltozást, mint a narancs-, a meggy- vagy a szilvalé esetében, ezért, mint kiegészítő tápanyagot, megfelelőnek találtam a termékfejlesztéshez.

4.4.4. pH és pepton koncentrációjának optimalizációja

A központi elrendezésű kísérleti terv során a 8 : 2 = berkenyelé : víz (V/V) arányban hígított levét alkalmaztam, majd a pepton hozzáadása után történt meg a pH állítás. A legnagyobb növekedést a kiindulási 7,230 log TKE/ml *L. acidophilus* 150 sejtszámról 5,62 g/l pepton hozzáadása és pH 4,50 értékre való beállítása mellett értem el (M5.3. táblázat). Az M5.1. ábrán látható, hogy a további pH növelés még nagyobb sejtszámot eredményezne, a Pareto-diagram (M5.2. ábra) alapján azonban csak a pepton hozzáadásának van szignifikáns hatása a sejtszámmra, ezért a pH 4,50 értékre történő állítás elegendő.

4.4.5. *Lactobacillus* törzsszelekció fekete berkenyelére

Az előkísérletek során meghatározott fermentációs paramétereket (31. táblázat) és (30 °C-on) 24 órás fermentációs időt alkalmaztam a törzsszelekcióhoz, mely során 9 *Lactobacillus* törzset (*L. rhamnosus* GG, *L. casei* Shirota, *L. reuteri* DSM 17938, *L. acidophilus* 150, *L. acidophilus* LA-5, *L. casei* 01, *L. acidophilus* N2, *L. plantarum* 2142, *L. fermentum* DT41) tanulmányoztam a fermentációs képesség vonatkozásában. A törzs tulajdonságainak (szaporodás és szerves sav tartalom), valamint a nyersanyagra kifejtett hatásának (összes oldott szárazanyag-tartalom, pH) vizsgálata, továbbá az összes polifenol tartalom, antioxidáns és gyökfogó kapacitást mérése valósult meg. A törzsszelekciót a Nero és a Viking fajtákra végeztem el.

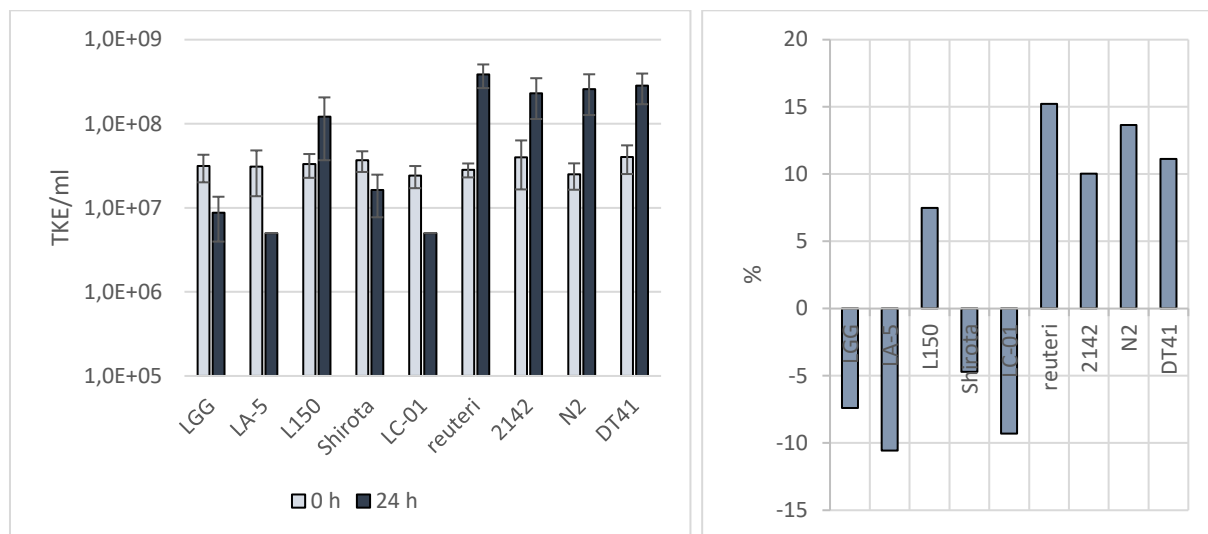
31. táblázat: Fekete berkenye tejsavas fermentációjához szükséges paraméter beállítások

pH	Pepton (g/l)	Hígítás (lé : víz (V/V))
4,50	5,62	8 : 2

4.4.5.1. *Nero*

A fekete berkenye kiváló példája annak, hogy mennyire fontos a megfelelő törzsszelekció, ugyanis a kiindulási 7 log TKE/ml sejtszámról a Nero fajtánál bizonyos esetekben egy nagyságrendnyi növekedést (pl. Reuteri és N2), egyes törzseknél (LGG, LA-5, Shirota, LC-01) azonban csökkenést mértem (16. ábra). Szignifikáns különbség elsősorban a 8 log TKE/ml feletti és 7 log TKE/ml alatti sejtszámot elérő törzsek között mutatható ki (M5.4. táblázat). De a legnagyobb sejtszámot eredményező Reuteri (8,587 log TKE/ml) például szignifikánsan különbözik az összes, kivéve az N2 és DT41 törzsektől. A kiindulási sejtszám a kísérletek során közel azonos volt minden törzsnél (7,385 – 7,605 log TKE/ml), így az összehasonlítás releváns,

az átláthatóság érdekében azonban növekedési rátát is számoltam, ami szintén a Reuteri törzsnél volt a legnagyobb (15,22%).



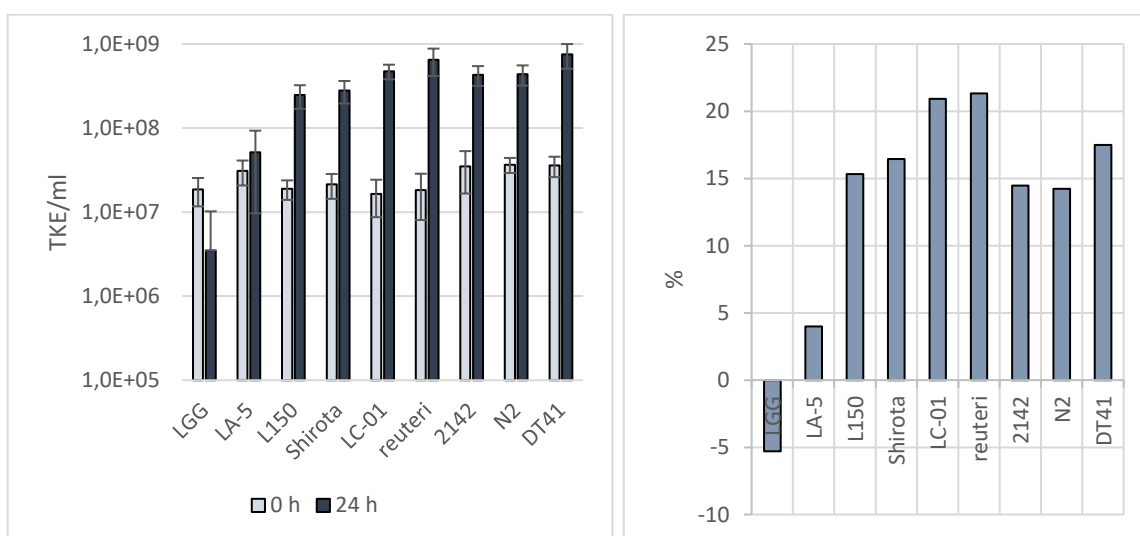
16. ábra: *Lactobacillus* sejtszám (TKE/ml) változás a fermentáció során és növekedési ráta (%) a Nero fekete berkenyelében

A Nero berkenye mért eredményei az M5.5. táblázatban tekinthetők meg. A kiindulási, 0 órás pH 4,50-re állítása alapvetően kis érték, ezért a szaporodás során ez nem csökkent le jelentősen (4,27 – 4,49). A statisztikai vizsgálatok alapján azonban a legtöbb esetben ezek szingifikánsan eltérnek egymástól (M5.6. táblázat), a termékfejlesztés szempontjából azonban a maximum 0,22 különbség a pH-ban nem jelentős. Az összes oldott szárazanyag-tartalom 15,9%-ról minimálisan lecsökkent (15,2 – 15,7%), a titrálható savtartalom pedig bizonyos törzseknél növekedett (pl. Shirota), egyeseknél csökkent (pl. N2). A tejsavbaktérium tejsav termelése ellenére a titrálható savtartalom csökkenését a fermentáció során a szerves savak fogyasztása magyarázhatja (PUERARI et al., 2012). Azonban sem az összes oldott szárazanyag-tartalomban, sem a titrálható savtartalomban nem mutatkozik szignifikáns különbség a törzsek között (M5.7-M5.8. táblázat). Az összes polifenol tartalom valamennyi alkalmazott *Lactobacillus* törzssel növekedést mutatott, statisztikailag kimutatható különbség pedig kizárólag a két szélsőértéket produkáló, Reuteri (4819,93 mg GAE/kg) és LC-01 (4280,30 mg GAE/kg) törzsek között lépett fel (M5.9. táblázat). Az antioxidáns kapacitásban a kiindulási értékhez képest (65,17 mM Fe(II)/kg) az L150 (60,92 mM Fe(II)/kg) kivételével minden esetben növekedést mértem, ami így az LC-01, 2142, N2 és DT41 törzsektől szignifikáns eltérést eredményezett (M5.10. táblázat). Jóllehet a szabad gyökfogó kapacitás mérése során a kiindulási 31,52 mMTr/kg-ról törzstől függően csökkenés és növekedés is fellépett, nem tapasztaltam szignifikáns különbséget a *Lactobacillus*-ok között (M5.11. táblázat).

4.4.5.2. Viking

A Viking berkenyelében a kiindulási sejtszám hasonlóan alakult, mint a Nero fajtánál (7,217 – 7,564 log TKE/ml), a sejt szaporodásban azonban már jelentős eltéréseket tapasztaltam (17. ábra). A Viking berkenyelében kizárólag az LGG sejtszáma csökkent, a többi törzs egy nagyságrendnyi növekedést mutatott. Ebből kifolyólag az LGG az összes, kivéve az LA-5, törzstől szignifikánsan eltért, de a legtöbb alkalmazott törzs között kimutatható az élősejtszámbeli különbség a $p = 0,05$ szignifikancia szinten (M5.12. táblázat). A legnagyobb sejtszámot a Viking fajtában a DT41 (8,876 log TKE/ml, 20,93%), míg a legnagyobb növekedési rátát a probiotikus Reuteri (8,812 log TKE/ml, 21,32%) eredményezte. A két törzs sejtszáma azonban szignifikánsan megegyezik.

A fermentáció eredményeit az M5.13. táblázat foglalja össze. A kiindulási pH (4,50) bizonyos törzsekkel való fermentáció során növekedést mutatott, melyeknél egyébként a titrálható savtartalom is csökkent, holott a tejsavat termelő *Lactobacillus* szaporodása során nem ezt várnánk. A 4,10 és 4,62 közötti fél tizedes pH különbség már jelentősebbnek mondható, a legkisebb pH-t eredményező DT41 például az összes többi törzstől szignifikánsan eltér (M5.14. táblázat). A Viking fajtánál egyes törzsek szignifikáns különbséget mutattak az összes oldott szervesanyag-tartalomban és titrálható savtartalomban is (M5.15-M5.16. táblázat), de ezek az eltérések a fermentáció szempontjából elenyészők. Az összes polifenol tartalomban valamennyi törzssel csökkenést mértem a kiindulási értékhez képest, egyedül az LA-5 eredményezett növekedést, ami azonban szignifikánsan nem mutatkozik meg (M5.17. táblázat). Az antioxidáns és szabad gyökfogó kapacitás változatos eredményt mutatott, bizonyos törzsekkel való fermentációkor növekedés (pl. LGG), egyes törzsekkel azonban (pl. Shirota) csökkenés volt megfigyelhető, szignifikáns különbség azonban nem igazán volt jellemző (M5.18-M5.19. táblázat).



17. ábra: *Lactobacillus* sejtszám (TKE/ml) változás a fermentáció során és növekedési ráta (%) a Viking fekete berkenyelében

4.4.5.3. Berkenyefajták összehasonlítása

A sejtszámok alakulása bizonyítja, hogy a nyersanyag fajtája is befolyásolja a fermentációt, ugyanis míg a Nero esetében 4, addig a Vikingnél csak 1 törzs mutatott sejtszám csökkenést a törzsszelekció során a fekete törpeberkenyelében. Egyedül az LGG viselkedett hasonlóan a két fajtában, a Neroban és Vikingben is csökkenést tapasztaltam ennél a törzsnél a kiindulási sejtszámhoz képest. A két berkenyefajta eredeti pH-ja (Nero 3,77, Viking 3,80) közel azonos és KANG és munkatársai (2018) is hasonló értéket mértek fekete berkenye koncentrátum esetén (3,98). Jóllehet az összes oldott szárazanyag-tartalomban (Nero 19,5%, Viking 16,2%) és titrálható savtartalomban (Nero 1,1530 m/V%, Viking 0,8468 m/V%) nagyobb eltérés mutatkozott e két berkenye között, TOLIĆ és munkatársai (2015) is hasonlóan széles tartományt mértek 11 berkenye összes oldott szárazanyag-tartalmának (13,42 – 21,54%) mérése során. A kiindulási különbségek ellenére, a paraméter beállításoknak (hígítás, pepton hozzáadás, pH állítás) köszönhetően, a kiindulási titrálható savtartalom már közel azonos volt (Nero 0,5765 m/V%, Viking 0,5405 m/V%). A fermentációt követően mért titrálható savtartalom (0,4684 – 0,7387 m/V%) hasonlóan alakult, mint amit MARKKINEN és munkatársai (2019) mértek fekete berkenye (különböző *L. plantarum* törzsekkel történő) tejsavas erjedése során (0,2520 – 0,8200 m/V%). Az eredeti berkenyeleveknél a Nero fajta bírt nagyobb polifenol tartalommal (Nero 5116,65 mg GAE/kg, Viking 4228,58 mg GAE/kg). Ehhez hasonló eredményeket rögzítettek VALCHEVA-KUZMANOVA és munkatársai (2018), akik a 100%-os berkenyelénél (Elliot fajta) 5461 mg GAE/l-t mértek, míg JAKOBEK és munkatársai (2012) különböző fajtákban 8563,8 – 12055,7 mg GAE/kg értékeket detektáltak. A Nero berkenyénél fennálló előny a fermentációs paraméterek beállítását követően is megmaradt (Nero 3937,05 mg GAE/kg, Viking 3446,92 mg GAE/kg). A sejtszaporodás után is a Neronál mértem nagyobb polifenol mennyiséget az összes *Lactobacillus* törzs esetében. A fermentáció fenolos vegyületekre gyakorolt hatása nagymértékben függ az alkalmazott *Lactobacillus* törzstől és a nyersanyagtól (MARKKINEN et al., 2019), mindenesetre a bioaktív komponensek szempontjából a Nero fajtát érdemes választani, mivel az előbb említett tendencia jellemző az antioxidáns és szabad gyökfogyó kapacitásra is.

4.4.6. Összegzés

A különböző fajtájú (Nero, Viking) fekete berkenyék natív formájukban nem ideálisak a *Lactobacillus* szaporodásához, pepton hozzáadásával, a fermentációs paraméterek beállításával azonban sikerült biztosítani a *Lactobacillus* szaporodásához szükséges feltételeket a pasztörözött berkenyelében. A fermentációs paraméterek, kiegészítő tápanyagok optimalizációját statisztikai módszerekkel végeztem el, így a 4,50 pH mellett 5,62 g/l peptonra van szükség, amennyiben a fekete berkenyelevet vízzel egészítjük ki 8 : 2 (V/V) arányban.

A legnagyobb sejtszámot a *L. fermentum* DT41 (8,876 log TKE/ml) eredményezte a Viking fajtában, a bioaktív komponensek szempontjából azonban a Nerot érdemes választani, mely fajtánál a legnagyobb élősejtszámot és a legnagyobb polifenol tartalmat is a *L. reuteri*

DSM 17938 törzsszel sikerült elérni (mely törzs egyébként a Viking fajtában is a legnagyobb növekedési rátát eredményezte). A Nero fajtánál nagyobb mennyiséget mértem az antioxidás és szabad gyökfőgő kapacitásban is, mint a Vikingnél, valamint az összes alkalmazott *Lactobacillus* törzs növekedést eredményezett a kiindulási értékekhez képest. Továbbá míg a Nero berkenyelében legjobban viselkedő *L. reuteri* DSM 17938 bizonyítottan probiotikus törzs, addig a Viking fajtánál legnagyobb sejtszámot eredményező *L. fermentum* DT41 törzsről ez nem mondható el. Jóllehet a fekete berkenye és a belőle készült termékek savanyú, fanyar és keserű íze korlátozó tényező a gyümölcs fogyasztására (MARKKINEN et al., 2019), a tejsavas fermentáció során termelt savak és természetes aromaanyagok kedvező hatással bírnak a gyümölcsle ízére, így a módszer egy új területet alapozna meg a fekete törpeberkenye felhasználásában.

4.5. Birsalma tejsavas fermentációja

Hogy általánosabb információt kapjak a birsalma tejsavas erjedéséről, a kutatás során nyersanyagként háromfajta birsalmát használtam: az Angersi, a Csokonai és a Mezőkövesdi fajták feldolgozására a 3.3.1. fejezetben leírtak alapján került sor. A megfelelő gyümölcsle állag elérése érdekében a birsalmalé készítésekor 500 g birsalmához 500 ml víz hozzáadására volt szükség. A birsalmán jelen lévő csíraszám lecsökkentésére, megszüntetésére az eddig alkalmazott 60 °C-on, 15 percen keresztül történő pasztörözés nem bizonyult elegendőnek, ezért vizsgáltam, hogy a paradicsomlére optimalizált paraméterekkel történő pasztörözés (4.6.3. fejezet) hogyan hat a birsalmalé összcsíraszámára. Ez a hőmérséklet-idő megfelelőnek bizonyult a csíraszám megszüntetésére, ezért a továbbiakban a 65 °C-on, 60 percig hőkezelt birsalmalé vizsgálataira került sor, mely még így is az MTLT (mild temperature-long time, enyhe hőmérséklet-hosszú idő) pasztörözési tartományba esik (AĞÇAM et al., 2018).

4.5.1. Előkísérlet

Az előkísérleteket a Mezőkövesdi fajtára végeztem el, a kapott eredményeket pedig a későbbiekben (a törzsszelekció során) az Angersi és a Csokonai birsalmafajtákra adaptáltam. Az előkísérletek során vizsgáltam, hogy a birsalmalé önmagában megfelelő környezetet biztosít-e a *Lactobacillus*-ok szaporodásához, ezért az anyagcsere tekintetében három különböző *Lactobacillus* törzssel (*L. rhamnosus* GG (fakultatív heterofermentatív), *L. fermentum* DT41 (obligát heterofermentatív) és *L. acidophilus* 150 (obligát homofermentatív)) oltottam be és 30 °C-on, 24 óráig inkubáltam aerob körülmények között. A *Lactobacillus* összetett tápanyagigénye miatt azonban 24 órát követően, mindhárom törzs esetében, csökkenést mértem az élősejtszámban (M6.1. táblázat). Az eddig vizsgált gyümölcsök tejsavas fermentációja során kapott eredmények alapján vizsgáltam a pH állítás hatását, starterkultúráként *L. casei* Shirota törzset alkalmazva. Azonban az eredeti (3,45) pH 6,00 értékre való állítása sem eredményezett pozitív változást az élősejtszámban, a kiindulási sejtszám (7,574 log TKE/ml) 24 óra elteltével ebben az esetben is csökkenést mutatott a birsalmalében (6,892 log TKE/ml).

4.5.2. Taguchi kísérlettervezési módszer tápanyagkiegészítésre

A Taguchi kísérlettervezési módszer azt a célt szolgálta, hogy tudomást szerezzek arról, milyen kiegészítő tápanyag hozzáadására van szükség a tejsavbaktérium elszaporodásához birsalmalében. A kiegészítés a birsalmalé pH 6,50-re történő állítása, majd 8 : 2 = birsalmalé : víz (V/V) arányú hígítása után történt. A kísérleti tervet a fekete törpeberkenyénél alkalmazott paraméterekkel, 7 tápanyagra vonatkozóan végeztem el (M5.2. táblázat). A kiindulási sejtszámhoz (7,717 log TKE/ml) képest egy nagyságrendnyi növekedést az az összeállítás eredményezett minden esetben, amelyik nagyobb mennyiségű pepton kiegészítést tartalmazott (M6.2. táblázatban szürkével jelölt sorok), akár csak a fekete berkenyelé esetében (4.4.4. fejezet). A Pareto-diagram is bizonyítja, hogy csak a pepton hozzáadásának van szignifikáns

hatása a sejtszaporodásra (M6.1. ábrán), vagyis a 24 órás inkubációs idő után mért élősejtszám alapján a pepton, mint kiegészítés bioznyult megfelelőnek.

4.5.3. pH és pepton koncentrációjának optimalizációja

Mivel a Taguchi kísérlettervezés során a pH állítás és a peptonnal való kiegészítés együtt pozitív hatással bírt a *Lactobacillus* szaporodására, ezek optimális értékeit központi elrendezésű kísérleti tervvel határoztam meg. Ennek során a 8 : 2 = birsalmalé : víz (V/V) arányban hígított levet alkalmaztam, majd a pepton hozzáadása után történt meg a pH állítás. A kiindulási 7,839 log TKE/ml sejtszámról a legnagyobb növekedést (8,850 log TKE/ml) 5 g/l pepton hozzáadása és pH 6,00 értékre való beállítása mellett értem el (M6.3. táblázat). Az M6.2. ábrán látható, hogy a felületnek nincs egyértelműen maximum pontja, vagyis a további pepton koncentráció és pH érték növelése még nagyobb sejtszámot eredményezne. Azonban az élelmiszerfejlesztéskor érdemes szem előtt tartani a hozzáadott anyagok minimalizálását, mivel 5 g/l pepton hozzáadása és a pH 6,00 értékre történő állítása is közel 9 log TKE/ml sejtszámot eredményezett, ezért a hígítás mellett ezt a kiegészítést és beállítást alkalmaztam a törzsszelekció során.

4.5.4. *Lactobacillus* törzsszelekció birsalmalére

Az előkísérletek során meghatározott fermentációs paramétereket (32. táblázat) és (30 °C-on) 24 órás fermentációs időt alkalmaztam a törzsszelekcióhoz, mely során 9 *Lactobacillus* törzset (*L. rhamnosus* GG, *L. casei* Shirota, *L. reuteri* DSM 17938, *L. acidophilus* 150, *L. acidophilus* LA-5, *L. casei* 01, *L. acidophilus* N2, *L. plantarum* 2142, *L. fermentum* DT41) tanulmányoztam a fermentációs képesség vonatkozásában. A kutatás során a törzs tulajdonságainak – mint szaporodás és metabolizmus (szerves sav tartalom) –, a nyersanyagra kifejtett hatásának (összes oldott szárazanyag-tartalom, pH) mérését mikrobiológiai és analitikai módszerekkel valósítottam meg. A törzsszelekciót az Angersi és a Csokonai fajtákra végeztem el.

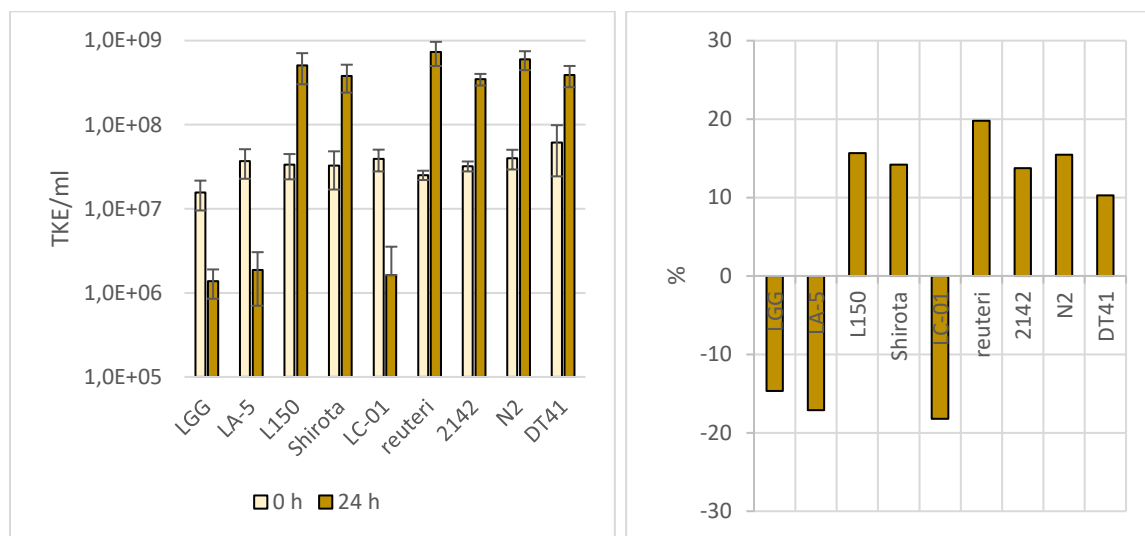
32. táblázat: Birsalma tejsavas fermentációjához szükséges paraméter beállítások

pH	Pepton (g/l)	Hígítás (lé : víz (V/V))
6,00	5	8 : 2

4.5.4.1. Angersi

Az adott nyersanyagra történő törzsszelekció jelentőségét támasztják alá az Angersi birsalmalé eredményei, aminél a Reuteri törzssel sikerült elérni a legnagyobb élősejtszámot (8,865 log TKE/ml) és növekedési rátát (19,79%) a fermentáció során (18. ábra), ami szignifikáns különbséget mutat az összes többi, kivéve az N2 (8,776 log TKE/ml) törzssel szemben (M6.4. táblázat). Bizonyos törzseknek azonban az optimális körülmények meghatározása és beállítása

ellenére sem bizonyult ideális nyersanyagának szaporodásukhoz a birsalmalé, az LGG, LA-5 és LC-01 sejtszáma is csökkent a 24 óra alatt.



18. ábra: *Lactobacillus* sejtszám (TKE/ml) változás a fermentáció során és növekedési ráta (%) az Angersi birsalmalében

A pH, az összes oldott szárazanyag-tartalom és a titrálható savtartalom változását az Angersi birsalmalében az M6.5. táblázat foglalja össze. A pH-ban jelentős különbségek adódtak a törzsek között. Azoknál, melyeknél sejtszám csökkenés volt tapasztalható, a pH csupán pár tizedes jeggyel csökkent (5,68 – 5,78). A többi *Lactobacillus* esetében a pH akár 4,07 (N2) értékre is lecsökkent, ami azonban még a 4,22 értéktől (L150) sem tér el szignifikánsan (M6.6. táblázat). Az összes oldott szárazanyag-tartalomnál is effektíve két csoportra oszthatók az eredmények: a kiindulási 6,3%-ról alig változott az LGG, LA-5 és LC-01 esetében (6,1%), míg a többi törzssel 5,5 – 5,8% közé csökkent. Statisztikailag ugyan nem ennyire egyértelmű a két csoport, mivel például a Shirota (5,8%) a Reuteri (5,6%) törzssel egyezik meg szignifikánsan, míg a 5,5%-ot eredményező 2142 törzstől már szignifikánsan eltér (M6.7. táblázat). A titrálható savtartalomban is elég nagy különbségek adódtak, ami szignifikánsan is megmutatkozik. A legtöbb savat az N2 törzssel való fermentációt követően mértem, (0,5405 m/V%), ami csak a DT41 törzssel (0,4864 m/V%) egyezik meg szignifikánsan (M6.8. táblázat). A titrálható savtartalomban minimális növekedést (0,1531 – 0,2252 m/V%) mértem a kiindulási értékhez (0,1261 m/V%) képest annál a három törzsnél, melynek a 24 óra alatt csökkent az élősejtszáma és a birsalma pH és oldott szárazanyag-tartalma igen kis változást mutatott. Mivel az eredmények alapján egyértelműen feltételezhető az összefüggés a mért adatokban, a Pearson-féle korreláció számítását is elvégeztem az SPSS programban. A feltételezést erősen alátámasztják a kapott értékek, mely alapján az egyes paraméterek között minden esetben szignifikáns a korreláció (33. táblázat). A legerősebb összefüggés a pH és az összes oldott szárazanyag-tartalom között volt mérhető (0,945), vagyis minél inkább csökkent az összes oldott szárazanyag-tartalom, annál inkább csökkent a pH is. Mind a kettő összefüggésbe hozható a *Lactobacillus*-ok által termelt tejsavval, vagyis titrálható savtartalommal.

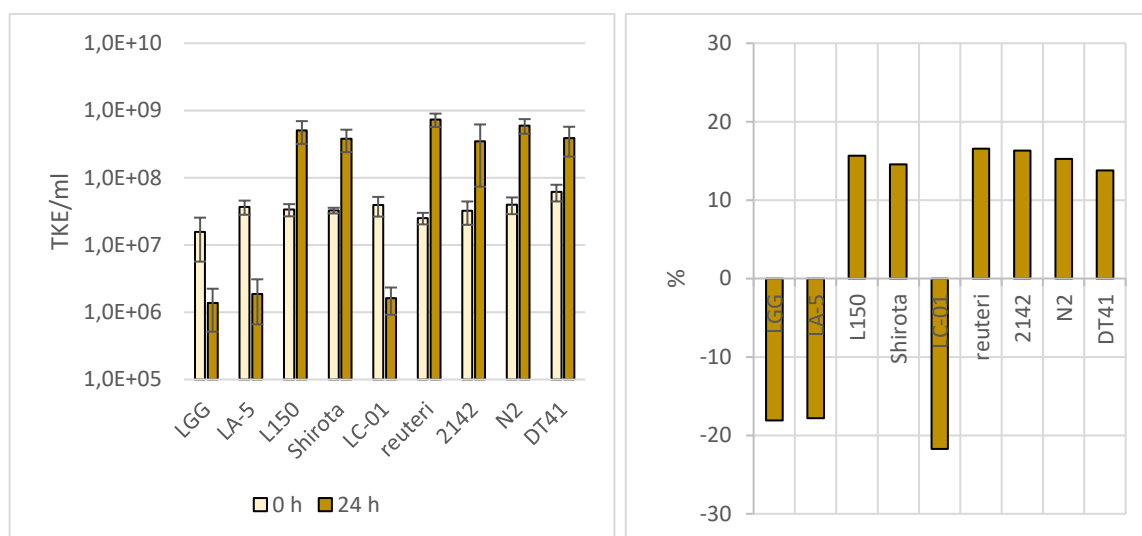
33. táblázat: Pearson-féle korreláció a sejtszám, a pH, az összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) és a titrálható savtartalom (TA) között a fermentált Angersi birsalmalében

	Sejtszám	pH	TSS	TA
Sejtszám	1,000	-0,883**	-0,787**	0,671**
pH	-0,883**	1,000	0,945**	-0,895**
TSS	-0,787**	0,945**	1,000	-0,901**
TA	0,671**	-0,895**	-0,901**	1,000

**korreláció szignifikáns a 0,01 szinten

4.5.4.2. Csokonai

A 24 óra elteltével a legnagyobb sejtszámot a Csokonai fajtában a 2142 törzzsel sikerült elérni (8,824 log TKE/ml), míg a legnagyobb növekedési rátát a Reuteri eredményezte (16,55%) (19. ábra). Ennek ellenére a 2142 élősejtszáma az L150, Shirota, N2 és DT41 sejtszámaival egyezik meg szingifikánsan (M6.9. táblázat), ezek mind közelítették a kívánt 9 log TKE/ml koncentrációt. Az LC-01 kiugró értéket mutat negatív irányban, a sejtszáma két nagyságrendet csökkent a Csokonai birsalmalében (5,824 log TKE/ml), de az LGG és LA-5 élősejtszáma is kevesebb volt a 0 órás mintához képest.



19. ábra: *Lactobacillus* sejtszám (TKE/ml) változás a fermentáció során és növekedési ráta (%) a Csokonai birsalmalében

A Csokonai birsalmalében fellépő, mért paraméter változások az M6.10. táblázatban láthatók. A kiindulási, beállított pH a 24 órás fermentációt követően 4,03 – 5,72 közé csökkent, ami elég széles tartomány a pH tekintetében és ez szignifikánsan is megmutatkozik (M6.11. táblázat). A legnagyobb összes oldott szárazanyag-tartalom fogyás azonban nem a legkisebb pH-t eredményező törzsnél mutatkozott, a DT41 törzs alkalmazásakor ugyanis 6,5%-ról egészen 5,9%-ra csökkent a szárazanyag-tartalom. Itt elsősorban a szélső értékeket eredményező (5,9%

és 6,5%) törzsek között mutatható ki szignifikánsan is a különbség (M6.12. táblázat). A titrálható savtartalomban szintén nagy különbségeket véltem felfedezni, a nem szaporodó törzsek alig termeltek tejsavat a kiindulási mennyiséghez képest, így ezek statisztikailag teljesen elkülönülnek a többi törzstől (M6.13. táblázat). Egyes mért paraméterek között ennél a birsalma fajtánál is fellép bizonyos szintű korreláció (34. táblázat), ami jelen esetben a pH és a titrálható savtartalom között a legerősebb (-0,987) és fordítottan arányos, vagyis minél nagyobb savtartalmat mértem, annál kisebb pH-t eredményezett az adott tejsavbaktérium.

34. táblázat: Pearson-féle korreláció a sejtszám, a pH, az összes oldott száraanyag-tartalom (TSS) és a titrálható savtartalom (TA) között a fermentált Csokonai birsalmalében

	Sejtszám	pH	TSS	TA
Sejtszám	1,000	-0,816**	-0,504*	0,796**
pH	-0,816**	1,000	0,419	-0,987**
TSS	-0,504*	0,419	1,000	-0,420
TA	0,796**	0,987**	-0,420	1,000

*korreláció szignifikáns a 0,05 szinten

**korreláció szignifikáns a 0,01 szinten

4.5.4.3. *Birsalmafajták összehasonlítása*

A *Lactobacillus* törzsenkénti hasonló kiindulási sejtszámoknak köszönhetően könnyen összehasonlítható a két birsalmafajta sejtszám változása. A törzsek sejtszám növekedése vagy csökkenése nagyon hasonlóan alakult a két fajtában, vagyis a *Lactobacillus*-ok nem preferálják egyik vagy másik fajtát. Fontos azonban a megfelelő törzs kiválasztása, ugyanis míg valamely *Lactobacillus* törzs sejtszáma majdnem elérte a kívánt 9 log TKE/ml-t, addig másik élősejtszámban csökkenést mértem. Az Angersi birsalmalében a probiotikus Reuteri törzs eredményezte a legnagyobb sejtszámot (8,865 log TKE/ml) és sejtszám növekedést (19,79%), ezzel szemben a Csokonaiban a nem-probiotikus 2142 törzs szaporodott el a legnagyobb számban (8,824 log TKE/ml), de a legnagyobb növekedési rátát a Csokonai birsalmalében szintén a Reuteri mutatta (16,55%). A jobban szaporodó törzsekhez hasonló eredményeket értek el MANTZOURANI és munkatársai (2019) *L. paracasei* starterkultúráként történő alkalmazásakor gránátalmalében, 30 °C-on, 24 órás inkubációt követően (8,5 – 9,8 log TKE/ml a kiindulási pH-től függően). A birsalma viszont a rózsafélékhez, azon belül is a *Maloideae* alcsaládba tartozik, mint a törpeberkenye. Ebből kifolyólag alakulhatott hasonlóan az egyes *Lactobacillus* törzsek sejtszáma a fekete törpeberkenye fermentációs vizsgálatakor kapott eredményeimhez (4.4.6. fejezet). A szintén a rózsafélék családjába tartozó alma 24 órás fermentációját követően WANG és munkatársai (2021) 7,50 log TKE/ml sejtszámról nem egészen egy nagyságrendnyi növekedést mértek. A fermentáció következő 4 órájában azonban további sejtszámnövekedés volt megfigyelhető, így *L. fermentum* törzssel sikerült elérniük a 9,24 log TKE/ml sejtszámot. LAI és munkatársai (2022) is hasonló eredményt kaptak almálé 24 órás fermentációjakor, 7,89 – 8,35 log TKE/ml *Lactobacillus* élősejtszámot mértek törzstől

függően, ami szintén 1 nagyságrendnyi növekedést jelent a kiindulási 7 log TKE/ml sejtkoncentrációhoz képest. Almalé pH állítását követően jelentős sejtszám növekedést mértek DIMITROVSKI és munkatársai (2015b), a fermentáció végére megnövekedett pH azonban érzékszervi bírálatok alapján nem bizonyult kielégítőnek. A törzsszelekció során általam vizsgált fajták között minimális különbséget mértem az eredeti pH-ban, melyek közül az Angersiből készült gyümölcsle (3,26) bizonyult savasabb közegnek a Csokonai fajtával (3,53) szemben, de RANDAZZO és munkatársai (2016) még savasabb pH-t mértek (3,19) birsalma vizsgálata során. A birsalmalevek azonos, beállított pH értéke (6,00) akár két értéket is csökkent (amennyiben megfelelő mértékben szaporodott el a baktérium), ami organoleptikus és mikrobiológiai biztonság szempontjából egyaránt fontos. Az összes oldott szárazanyag-tartalomban (Angersi 7,0%, Csokonai 7,3%) és titrálható savtartalomban (Angersi 0,5585 m/V%, Csokonai 0,4684 m/V%) nem volt jelentős különbség a két birsalmafajta között. Az adott törzsek nagyon hasonló változást eredményeztek az Angersi és Csokonai fajtákban, így összességében nincs jelentős különbség a két birsalma fajta között a fermentáció tekintetében. A vizsgált törzsek hasonló sejtszám növekedést vagy csökkenést mutattak a két fajtában, vagyis az LGG, LA-5 és LC-01 élősejtszáma is kevesebb volt a 0 órás mintához képest, míg az L150, Shirota, Reuteri, 2142, N2 és DT41 törzsekkel közel 9 log TKE/ml élősejtszámot mértem a 24 órás fermentációt követően. PENG és munkatársai (2021) azonban akár közel egy nagyságrendnyi különbséget is mértek a starterkultúráként alkalmazott *Lactobacillus* keverék sejtszámában több, különböző fajtájú alma fermentációja során.

4.5.5. Összegzés

A többi vizsgált gyümölcshöz hasonlóan a birsalma (Angersi, Csokonai és Mezőkövesdi fajta) sem biztosított természetes formájában megfelelő környezetet a tejsavbaktériumok szaporodásához, a fermentációs paraméterek beállításával azonban sikerült biztosítani a *Lactobacillus* szaporodásához szükséges ideális feltételeket birsalmalében is. A kívánt élősejtszám elérése érdekében elvégeztem ezen paraméterek optimalizációját, mely szerint 6,00 pH mellett az optimális mennyiség peptonra vonatkoztatva 5 g/l, amennyiben a birsalmalevet vízzel egészítjük ki 8 : 2 (V/V) arányban.

A *Lactobacillus*-ok szempontjából nem számít a birsalma fajtája, fontos azonban a megfelelő starterkultúra szelekció, ugyanis míg a *L. reuteri* DSM 17938 vagy a *L. plantarum* 2142 igen nagy, közel 9 log TKE/ml sejtszámot ért el az optimális paraméterekkel rendelkező (hígított, peptonnal kiegészített és pH állított) birsalmalében, addig a *L. casei* 01 élősejtszáma akár két nagyságrendet is csökkent. Az Angersi birsalmára nézve a *L. reuteri* DSM 17938 (8,865 log TKE/ml), míg a Csokonai fajtára a *L. plantarum* 2142 (8,824 log TKE/ml) starterkultúráként történő alkalmazásával értem el a legnagyobb élősejtszámot. Vizsgálataim alapján elmondható, hogy a megfelelő *Lactobacillus* törzsek alkalmazásával és azok szaporodásához szükséges feltételek megteremtésével lehetőség van *Lactobacillus* törzsszel tejsavasán fermentált termék kialakítására, ami közelíti a 9 log TKE/ml élősejtszámot a termékben.

4.6. Paradicsomlé tejsavas fermentációja

Hogy általánosabb információt kapjak a paradicsomlé tejsavas erjedéséről, a kutatás során nyersanyagként 19 fajta paradicsomot használtam (35. táblázat).

35. táblázat: Felhasznált paradicsom típusok és azok beltartalmi értékei: pH, összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) (%), titrálható savtartalom (TA) (tejsavra (m/V%)) és az összes oldott szárazanyag-tartalom és titrálható savtartalom aránya (TSS/TA)

Minta jelölése	pH	TSS	TA	TSS/TA
Cherrola	4,17	8,0	0,6666	12,00
Mobil	4,28	4,0	0,5044	7,93
Uno Rosso	4,34	5,0	0,6306	7,93
452	4,15	5,1	0,5405	9,44
455	4,15	4,0	0,6666	6,00
458	4,24	4,1	0,7206	5,69
461	4,28	4,9	0,7927	6,18
463	4,15	4,2	0,7206	5,83
464	4,31	5,1	0,7387	6,90
465	4,37	4,3	0,7026	6,12
467	4,13	4,2	0,5945	7,06
469	4,31	5,2	0,6846	7,60
470	4,25	3,9	0,4504	8,66
472	4,30	5,2	0,7747	6,71
473	4,28	3,8	0,3243	11,72
475	4,32	6,5	1,0269	6,33
476	4,19	6,2	1,0449	5,93
477	4,29	3,0	0,5765	5,20
479	4,14	4,8	0,9098	5,28

4.6.1. Paradicsomok feldolgozása

Először az Uno Rosso fajta feldolgozása, mosást követően, háromféle módszerrel történt meg. A „hot break” nevezetű eljárás során a paradicsomok fürdővizét 85 – 90 °C-ra melegítettem és megvártam, míg a paradicsom héja megreped („break”). A másik módszer során a víz 80 °C-ra való felmelegedését követően vettem ki a paradicsomokat a fürdővízből és a héját egy kés segítségével szúrtam meg, ezzel feltárva azt. A harmadik módszer utóbbival megegyezett, csak a víz hőmérséklete különbözött, ez esetben 50 °C-ra történt a felmelegítés. A hideg (50 – 60 °C) módszernél a szín, az állomány és egyes érzékszervi tulajdonságok (íz, illat) jobbak, ugyanakkor a passzírozási veszteségek nagyobbak. Ezzel szemben a meleg módszernél (80 – 92 °C) a kihozatal, a mikrobiológiai állapot és az enzim inaktiválás mutat jobb eredményeket, a hazai konzerviparban utóbbit alkalmazzák elterjedten. Míg a „hot break” módszernél a hőterhelés miatt már a roppantás pillanatában inaktiválódnak a kiszabaduló pektinbontó

enzimek, így a paradicsombogyókban eredetileg meglévő értékes pektinanyagok megmaradnak, a piaci igénynek megfelelően a termék sűrűbb, testesebb lesz. A paradicsom szérum viszkozitása nagyobb marad, a paradicsomlé kiadósabb lesz, ami ivólevelek készítésénél különösen fontos (BARTA & KÖRMENDY, 2007). Mindhárom módszernél a paradicsomok lékinyerése botmixerrel valósult meg, amit kétszeri szűrés követett.

A különböző módon feldolgozott paradicsomleveket 5 *Lactobacillus* törzsszel (*L. rhamnosus* GG, *L. acidophilus* 150, *L. casei* Shirota, *L. plantarum* 2142 és *L. acidophilus* N2) tejsavasán fermentáltam (24 óra, 30 °C), az élősejtszám mellett pedig a pH, az összes oldott szárazanyag-tartalom és a titrálható savtartalom változását mértem. A kapott eredményekből (M7.1. táblázat) látható, hogy a feldolgozási mód befolyásolja a levek beltartalmi értékeit és akár nagyobb különbségek is lehetnek a pH (4,19 – 4,40), az összes oldott szárazanyag-tartalom (5,1 – 5,6) és titrálható savtartalom (0,6486 – 0,7747) értékeiben. Mivel így a fermentációs kiindulási paraméterek mások, ezért a sejtszaporodás következtében is más értékeket eredményeztek az egyes törzsek a különböző módon feldolgozott paradicsomlevekben. A paradicsomlevek sejtszám alakulását tekintve mindhárom módszernél az összes törzs elérte vagy közelítette a 9 log TKE/ml élősejtszámot (M7.2. táblázat). A „hot break” módszerrel feldolgozott paradicsomlé tejsavas erjesztésekor azonban mind az 5 alkalmazott *Lactobacillus* törzsnél 9 log TKE/ml sejtkoncentráció feletti értéket mértem, ezért a továbbiakban ezt a feldolgozási módszert alkalmaztam a paradicsomlevek vizsgálata során.

4.6.2. Előkísérlet

Az előkísérlet során szintén az Uno Rosso paradicsomfajtát vizsgáltam. A mintákat 24 órás *L. reuteri* DSM 17938 kultúrával oltottam be és 30 °C-on inkubáltam aerob körülmények között, majd 24 óra elteltével vizsgáltam a *Lactobacillus* élősejtszámot és mértem a mezofil aerob összcsíraszámot. A paradicsomlevet természetes formájában, valamint beállított, $7,00 \pm 0,01$ pH-val vizsgáltam. Ugyan szignifikáns különbség van a mért élősejtszámok között, mindkét paradicsommintában elérte a 9 log TKE/ml-t. A pH állítás (7,00) mellett 9,615 log TKE/ml-re, míg a pH állítás nélkül (4,34) 9,249 log TKE/ml-re nőtt a sejtszám, amit mikrobiológiai szempontból nem tekintünk nagy különbségnek. Ennek értelmében, más zöldségekhez hasonlóan (DI CAGNO et al., 2008, DIMITROVSKI et al., 2015a), a paradicsomlé pH állítása nem szükséges a *Lactobacillus*-ok elszaporodásához. A körültekintő előkészületek ellenére azonban jelentős számú saját mikroflóra volt jelen, ami az inkubáció során elszaporodott, ezért a frissen készített paradicsomlé pasztörözése szükséges. Hogy a paradicsomlében található hasznos komponensek a legkevesbé módosuljanak, a hőkezelés idejét és hőmérsékletét (M7.3. táblázat) kívántam minimalizálni, ezért központi elrendezésű kísérleti tervvel, a komponensek együttes hatását figyelembe véve, meghatároztam ezen paraméterek optimális értékeit (M7.1. ábra). A kísérlet alapján a 65 °C-on történő 60 perces hőkezelés az a hőmérséklet és idő kombináció, ahol még nem tesszük ki nagy hő sokknak a levét, ugyanakkor a viszonylag hőtűrő szennyező flóra már elpusztul, ezért a továbbiakban ezt alkalmaztam a paradicsomlé

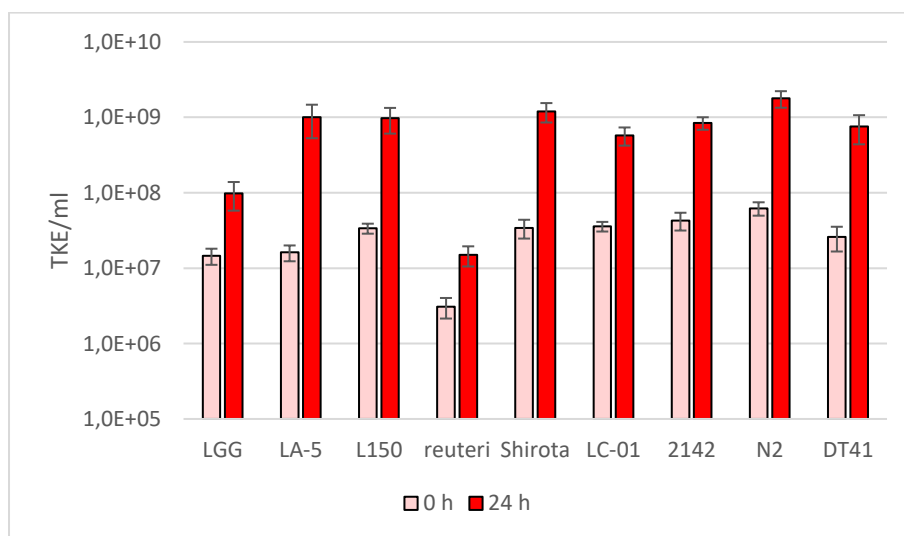
pasztörözési paramétereinek, mely még így is az MTLT (mild temperature-long time, enyhe hőmérséklet-hosszú idő) pasztörözési tartományba esik (AĞÇAM et al., 2018).

4.6.3. *Lactobacillus* törzsszelekció paradicsomlére

Az eddig vizsgált gyümölcsökkel szemben a tejsavbaktériumok paradicsomlében történő megfelelő szaporodásához a nyersanyag tápanyag-kiegészítésre, paraméter beállításra nem szorul. A fermentációhoz 30 °C-on 24 órás fermentációs időt alkalmaztam, mely során 9 *Lactobacillus* törzset (*L. rhamnosus* GG, *L. acidophilus* LA-5, *L. acidophilus* 150, *L. reuteri* DSM 17938, *L. casei* Shirota, *L. casei* 01, *L. plantarum* 2142, *L. acidophilus* N2, *L. fermentum* DT41) tanulmányoztam a fermentációs képesség vonatkozásában. A törzsszelekció során a törzsek szaporodása mellett vizsgáltam a pH, az összes oldott szárazanyag-tartalom és titrálható savtartalom változását a Mobil, az Uno Rosso és a Cherrola fajtákra nézve (M7.5. táblázat).

4.6.3.1. *Mobil*

A Mobil paradicsomfajtában a vizsgált *Lactobacillus* törzsek közül három érte el a 9 log TKE/ml sejtkoncentrációt (LA-5, Shirota, N2), kettő közelítette ezt az értéket (L150 és 2142), a többi törzs élősejtszáma pedig jobban elmaradt ettől a nagyságrendtől (20. ábra). Statisztikai módszerekkel vizsgálva a legnagyobb sejtszámot (9,251 log TKE/ml) elérő N2 az összes többi törzshöz képest szignifikáns különbséget mutat (M7.4. táblázat).



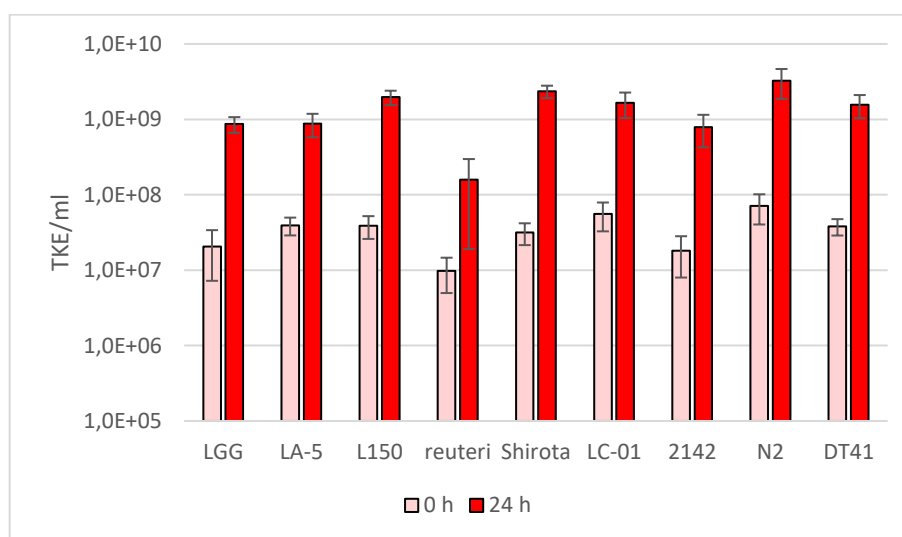
20. ábra: *Lactobacillus* sejtszám (TKE/ml) változás a fermentáció során a Mobil paradicsomlében

A pH, az összes oldott szárazanyag-tartalom és a savtartalom a fermentáció hatására, a baktériumok anyagcsere-tevékenységének köszönhetően és annak megfelelően változott. A pH a tejsavbaktériumok savtermelésének eredményeképpen az eredeti 4,28-as értékről 3,43 – 3,92

közé csökkent, ami különbség egyes törzsek között már jelentősnek mutatkozik (M7.6. táblázat). Az összes oldott szervesanyag-tartalom 0,2 – 0,6%-kal csökkent, ami különbség csak a két szélsőértéket eredményező LGG (3,8%) és LA-5 (3,4%) törzs között szignifikáns (M7.7. táblázat). A titrálható savtartalom minden esetben megnőtt, a savtermelésben azonban már nagyobb, akár kétszeres különbségek is adódtak (0,6216 – 1,2611 m/V%), ennek ellenére ez statisztikai szempontból nem jelentős (M7.8. táblázat).

4.6.3.2. *Uno Rosso*

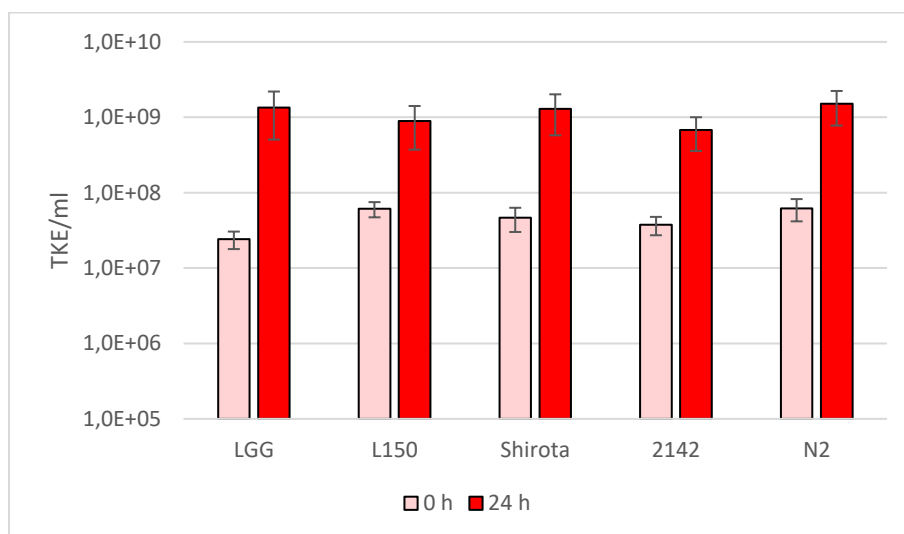
Az *Uno Rosso* fajtánál már 5 törzs is elérte a 9 log TKE/ml élősejtszámot (L150, Shirota, LC-01, N2, DT41) (21. ábra), melyek közül csak a Shirota és N2 érte el ezt a nagyságrendet a Mobil fajtánál is. A legnagyobb sejtszámot azonban ebben az esetben is az N2 szaporodása eredményezte (9,514 log TKE/ml), ami az összes többi törzshöz képest szignifikánsan nagyobb volt (M7.9. táblázat). A pH a kiindulási 4,34-es értékről 3,58 – 3,94 közé csökkent, az összes oldott szervesanyag-tartalom 0,5 – 0,9%-kal csökkent, míg a titrálható savtartalom átlagosan 0,7 – 0,9 m/V%-kal nőtt. A pH-ban a törzsek között fellépő több tizedesnyi különbség szignifikánsnak mutatkozik, például az LGG (3,59) és LA-5 (3,83) között, míg a legkisebb pH csökkenést eredményező Reuteri (3,94), az LA-5 kivételével, az összes többi alkalmazott *Lactobacillus* törzstől szignifikánsan nagyobb pH-t eredményezett (M7.10. táblázat). Az összes oldott szervesanyag-tartalom értékek esetén elsősorban a legkisebb, 4,1%-ot eredményező LA-5 és 2142 mutattak jelentős különbséget a többi törzshöz képest (M7.11. táblázat). Az LGG (1,1530 m/V%), az LA-5 (1,1981 m/V%) és a Reuteri (1,0990 m/V%) pedig szignifikánsan kevesebb savat termelt a többi vizsgált törzshöz képest (M7.12. táblázat).



21. ábra: *Lactobacillus* sejtszám (TKE/ml) változás a fermentáció során az *Uno Rosso* paradicsomlében

4.6.3.3. *Cherrola*

A *Cherrola* fajtánál 5 *Lactobacillus* törzs vizsgálatára volt lehetőség, ezért az előző két paradicsomfajtánál jobban és kevésbé jól szaporodó probiotikus és nem bizonyítottan probiotikus törzseket egyaránt választottam a törzsszelekcióhoz (*L. rhamnosus* GG, *L. acidophilus* 150, *L. casei* Shirota, *L. plantarum* 2142, *L. acidophilus* N2). A *Cherrola*-ban a legnagyobb sejtszámot az N2 (9,177 log TKE/ml) eredményezte (22. ábra), ami szignifikánsan nem különbözik a probiotikus LGG törzs sejtkoncentrációjától (9,130 log TKE/ml) (M7.13. táblázat). A szintén probiotikus Shirota ért még el hasonlóan nagy értéket (9,112 log TKE/ml), míg az L150 és 2142 közelítette a 9 log TKE/ml sejtszámot. Hasonló paraméterekkel rendelkező paradicsomlevet inokulált JUVEN és WEISSLOWICZ (1981), mely során a kis kiindulási sejtszám (3 log TKE/ml) ellenére 2 nap alatt elérte a 9 log TKE/ml sejtszámot a *L. plantarum* és *L. fermentum*. A vizsgált mintáimban a 4,17-es kiindulási pH 3,76 – 3,88, az összes oldott szőrazanyag-tartalom 8,0%-ról 7,1 – 7,4% közé csökkent. A titrálható savtartalom körülbelül kétszeresére emelkedett, 0,6666 m/V%-ról 1,2251 – 1,4233 m/V%-ra nőtt. Az egyes mért paraméterekben azonban nem volt szignifikáns különbség a törzsek között (M7.14 – M7.16. táblázat).



22. ábra: *Lactobacillus* sejtszám (TKE/ml) változás a fermentáció során a *Cherrola* paradicsomlében

4.6.3.4. *Paradicsomfajták összehasonlítása*

Annak ellenére, hogy egyes törzsek eltérően viselkedtek a különböző fajtáknál, a Mobil, az Uno Rosso és a *Cherrola* paradicsomlében is egyaránt az N2 érte el a legnagyobb sejtszámot, második helyen pedig a probiotikus Shirota szerepelt. A sejtszámok alapján az látszik, hogy a *Lactobacillus*-ok összességében az Uno Rossóban szignifikánsan jobban szaporodnak, nagyobb sejtszámot érnek el, mint a *Cherrola* vagy a Mobil fajtában (M7.17. táblázat). A háromfajta paradicsom kiindulási pH-ja 4,17 és 4,34 között alakult, a nagyobb kiindulási pH

azonban nem jelentette azt, hogy a tejsavas fermentációt követően is az adott paradicsomlé pH-ja volt nagyobb. Vagyis ugyanaz a *Lactobacillus* törzs a nagyobb pH-jú Uno Rosso paradicsomlében kisebb pH-t (azaz nagyobb pH csökkenést) eredményezett, mint a Cherrolában. A pH azonban minden mintában a mikrobiológiai biztonság szempontjából fontos 4-es érték alá lecsökkent (3,43 – 3,94). KUSHARYATI és munkatársai (2011) paradicsomlé fermentációja során hasonló pH-t mértek (3,6 – 3,9) és YOON és munkatársai (2004b) is ekkora pH csökkenést mértek 72 óra inkubáció után. A Cherrola fajta rendelkezett a legnagyobb összes oldott szárazanyag-tartalommal, ami a nyers paradicsomlé édesebb ízén is érződött. Ez a nagyobb összes oldott szárazanyag-tartalom ellensúlyozhatja ízvilágban a nagyobb savtartalmat és kisebb pH-t. A nyers Cherrola paradicsomlé titrálható savtartalma volt a legnagyobb, ami a fermentált leveknél is jellemzően nagy savtartalmat eredményezett, azonban az erjesztett paradicsomlevek közül jellemzően az Uno Rosso bírt a legnagyobb titrálható savtartalommal. Az összevont értékek azt mutatják, hogy az Uno Rosso és Cherrola paradicsomfajtákban közel azonos mértékű volt a savtermelés, míg a Mobilban jelentősen kisebb.

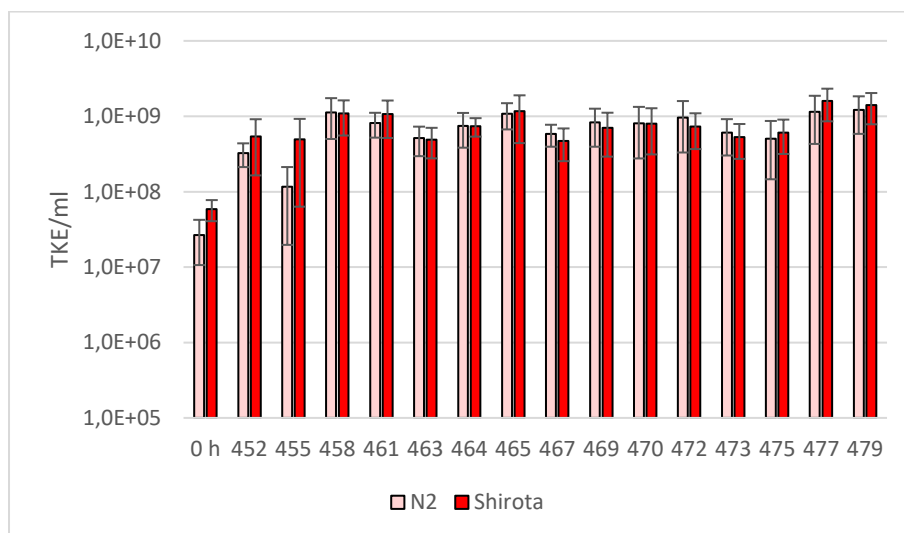
4.6.4. Tárolási kísérlet

Mivel egy probiotikus termék esetén fontos az élő sejtek száma a fogyasztás pillanatában, ezért a három paradicsomlével tárolási kísérletet végeztem. Ennek során a 24 órás fermentációt követően a mintákat hűtőszekrényben (6 °C) tároltam 4 héten keresztül és heti mintavételezéssel nyomon követtem a sejtszám változását. A pH, az összes oldott szárazanyag-tartalom és titrálható savtartalom mérésére az utolsó, 4. héten került sor. Az M7.18-M7.20. táblázatban az egyes *Lactobacillus* törzsek sejtszámának változása látható. Az értékekből jól látszik az élősejtszám csökkenő tendenciája a tárolás során, azonban a törzsek között jelentős, több nagyságrendnyi különbség is megfigyelhető (3,896 – 8,796 log TKE/ml Mobil, 3,971 – 8,901 log TKE/ml Uno Rosso, 7,893 – 8,632 log TKE/ml Cherrola paradicsomlében). Hasonlóan, mint ahogy a tejsavas fermentált céklalé hűvetárolása során tapasztaltak, ahol a 4. hétre *Lactobacillus* törzstől függően a sejtszám 5,207 – 7,886 log TKE/ml között alakult (YOON et al., 2004a). A paradicsomlében fellépő élősejtszámbeli különbség még jobban látható, ha a sejtek túlélési arányát (a végső sejtszám (logN) arányát a kezdeti sejtszámhoz (logN₀) viszonyítva) ábrázoljuk (M7.2-M7.3. ábra). Itt már jól elkülönülnek a sejtek túlélése alapján az egyes paradicsomfajták is. A legjobb túlélési eredményeket a Cherrola paradicsomlében kaptam (0,86 – 0,94), ennél a fajtánál mindegyik törzs esetén a négy hetes tárolást követően a sejtek 85%-a életképes volt. Az N2 törzs kivételével 8 log TKE/ml feletti élősejtszámot mértem, de a másik két paradicsomlében az N2 sejtszáma a 4. hétre 5 log TKE/ml alá csökkent. A Mobil paradicsomlé esetén az LGG törzs túlélése közel teljes volt (0,97), míg az LC-01 még 4 hét után is 100%-ban túlélte. Egyes, a fermentáció során akár nagy sejtszámot eredményező törzsek, például az egyik legjobban szaporodó, N2 azonban csak 50%-os túlélési arányt mutatott. Az Uno Rosso paradicsomlében szintén az LGG és LC-01 törzsek túlélése volt közel teljes (0,97 és 0,96), de az erjedés során legnagyobb sejtszámot produkáló Shirota sejtszáma is csak minimálisan csökkent le a 4. hétre (0,90). A mindhárom fajtában alkalmazott öt törzs

sejtszámára összesítve, a paradicsomlevekben az LGG és Shirota törzsek túlélése a legjobb, ezek képesek a legjobban megőrizni életképességüket a négy hetes tárolás végére, ami szignifikánsan is megmutatkozik (M7.21. táblázat). A mért beltartalmi értékek a négyhetes tárolás során kis mértékben változtak. A Mobil paradicsomlevekben a kiindulási, fermentáció utáni pH a legtöbb esetben nőtt (átlagosan 0,13 értékkel), hasonlóan az összes oldott szárazanyag-tartalom (0,14%-kal), továbbá a titrálható savtartalom is emelkedést mutatott a 4. hétre (0,17 m/V%-kal) (M7.22. táblázat). Az Uno Rosso fajtánál a pH nem, vagy alig csökkent, az összes oldott szárazanyag-tartalom 0,17%-kal, míg a titrálható savtartalom 0,16 m/V%-kal növekedett (M7.23. táblázat). A Cherrola paradicsomlében a pH átlagosan 0,15 értékkel csökkent, az összes oldott szárazanyag-tartalom 0,35%-kal, a savtartalom pedig 0,13 m/V%-kal nőtt (M7.24. táblázat).

4.6.5. Paradicsomfajták fermentációs vizsgálata

A szaporodási mutató alapján kiválasztott legjobb két törzssel, a *L. acidophilus* N2 és a *L. casei* Shirota törzsekkel vizsgáltam további 15 paradicsomfajtából készült lé fermentálhatóságát. A fermentációt a pasztörözés után a korábbi paraméterek szerint, 1%-os kezdeti inokulummal, 24 órás 30 °C-on történő inkubációval végeztem.



23. ábra: *Lactobacillus* sejtszám (TKE/ml) változás a fermentáció során a 15 fajta paradicsomlében

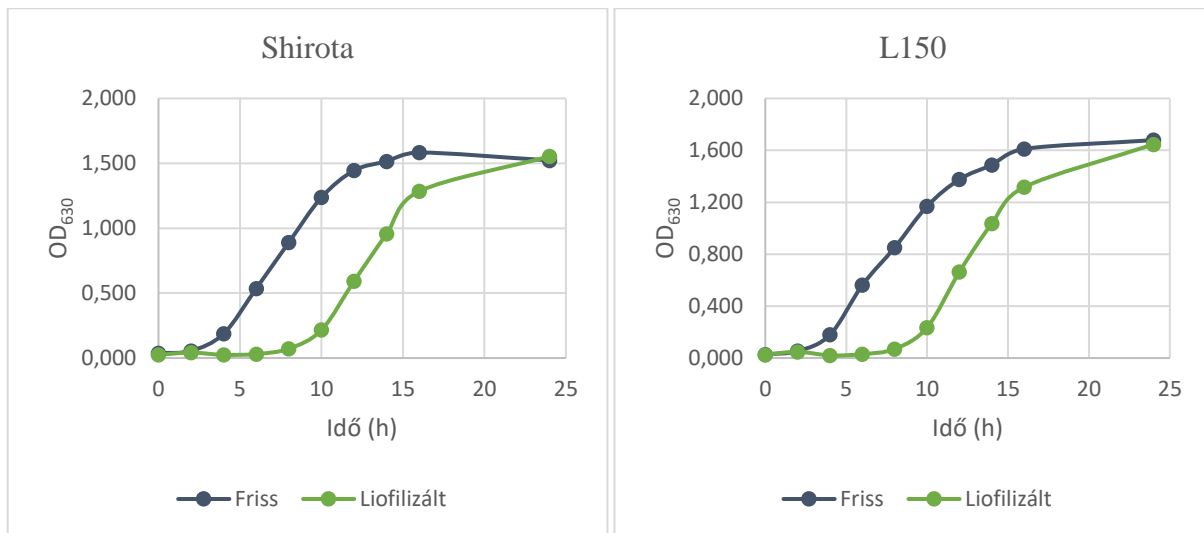
A vizsgált paradicsomlevek közül az N2 és a Shirota törzs esetén is, egy-egy kivétellel, ugyanazokban a paradicsomlevekben mértem 9 log TKE/ml sejtszám feletti értéket. A 458, 465, 477 és 479 jelű paradicsomokból készült levek esetén mindkét törzs elérte a 9 log TKE/ml sejtszámot, továbbá az N2 törzs a 472-es, míg a Shirota a 461-es paradicsommintában eredményezett még 9 log TKE/ml sejtkoncentrációt (23. ábra). A Mobil, Uno Rosso és Cherrola eredményeivel összevetve, így, összesen a 18 fajta paradicsom közül a legnagyobb sejtszámot

az N2 törzs, mint starterkultúra alkalmazásakor (csökkenő sorrendben) az Uno Rosso, Mobil, Cherrola, 479, 477, míg a Shirota törzs esetén (csökkenő sorrendben) az Uno Rosso, 477, Cherrola, 479, Mobil paradicsomlevelekben mértem. Összegezve tehát a legnagyobb sejtszámokat ugyanabban az öt fajtában mértem mindkét törzs esetén, ezek közül is az Uno Rosso mutatott kimagaslóan nagy értéket. A pH, az összes oldott szárazanyag-tartalom és a titrálható savtartalom változását vizsgálva (M7.25. táblázat) azonban nem találtam összefüggést a szaporodással, élősejtszámmal arra vonatkozóan, hogy miért pont ezekből a paradicsomfajtákból készült levek esetén eredményeznek a *Lactobacillus*-ok ilyen nagy sejtszámot. Összességében az általam vizsgált paradicsomfajták közül az élősejtszám tekintetében az Uno Rosso fajtát érdemes választani a paradicsomlé tejsavas fermentációjához. Az Uno Rosso tejsavas erjesztésekor a legnagyobb sejtszámot az N2 starterkultúráként történő alkalmazása eredményezte (9,514 log TKE/ml), de a probiotikus Shirota törzsnél is hasonlóan nagy sejtszámot mértem (9,372 log TKE/ml).

4.6.6. Liofilizált és friss *Lactobacillus* tenyészet szaporodásának összehasonlítása

A termékgyártási technológia szempontjából fontos a starterkultúra nagy mennyiségű előállítás, fenntartása és megfelelő tárolhatósága. A liofilizált sejtek jelentős veszteség nélkül megőrzik funkcionális tulajdonságukat (SHEKH et al., 2020). Ezért vizsgáltam az előzőleg liofilizált, majd peptonos fiziológiás sóoldatban visszaoldott *Lactobacillus*-ok (*L. casei* Shirota, *L. acidophilus* 150) szaporodását MRS táplevesben, amit ugyanolyan kezdeti koncentrációjú 24 órás, friss tenyészet szaporodásával összehasonlítva végeztem el. A beoltást követően a *Lactobacillus* szelektív tápleveseket 30 °C-on 24 óráig inkubáltam, 2 óránként mintát vettem és 630 nm-en mértem az optikai denzitást (OD). A sejtmentes MRS táplevest mint kontroll alkalmaztam, a 24. ábrán pedig már ezt a háttér denzitást levonva, a tiszta sejtszuszpenzió OD értékét ábrázoltam. Ez alapján látható, hogy a liofilizált tenyészet lag fázisa ugyan hosszabb, mint a friss tenyészeté, de 24 óra alatt ugyanazt az optikai denzitást, vagyis sejtkoncentrációt éri el, mint a friss tenyészet.

Hogy megbizonyosodjak róla, egy tejsavas fermentált termék gyártása során starterkultúráként valóban alkalmazható lenne liofilizált törzs, a *Lactobacillus* szelektív tápleves mellett a 476-os sorszámú paradicsomlében is elvégeztem a vizsgálatot. A kapott diagramok alapján (M7.5. ábra) azonban látható, hogy a paradicsomlében inokulumként való alkalmazásukkor a fermentáció után a liofilizált tenyészet jóval a friss tenyészet sejtkoncentrációja alatt maradt. A sejtszámból adódóan a pH és a titrálható savtartalom változásán is jól látszik ez a különbség (M7.6-M7.7. ábra). Az MRS táplevesben és paradicsomlében való szaporodásbeli különbségek miatt a liofilizált *Lactobacillus* alkalmazásának lehetőségei további vizsgálatot igényelnek.



24. ábra: *L. casei* Shirota (Shirota) és *L. acidophilus* 150 (L150) 630 nm-en mért optikai denzitás változása az idő függvényében (h) MRS táplevesben

4.6.7. Összegzés

A Cherrola, Mobil, Uno Rosso és további 16 fajta paradicsomról általánosságban elmondható, hogy ideális nyersanyagoknak bizonyultak (probiotikus) *Lactobacillus* starterkultúrával tejsavas fermentált termék előállítására, ugyanis a természetes mikroflóra lecsökkentésén (65 °C-on történő 60 perces hőkezelés) kívül nem szükséges egyéb kezelés, kiegészítés a tejsavbaktériumok elszaporodásához, mivel minden, a *Lactobacillus* növekedését elősegítő beltartalmi összetevő jelen van a paradicsomlében (JUVEN & WEISSLOWICZ, 1981, YOON et al., 2004b). A törzsek között jelentős különbségek is előfordultak a sejtszámban, viszont valamennyi *Lactobacillus* elérte az ideális 9 log TKE/ml élősejtszámot, amekkora sejtkoncentrációt mért JUVEN és WEISSLOWICZ (1981) is paradicsomlé fermentációjakor. A tejsavas fermentáció az összes fajta paradicsomlénél kellő mértékű pH csökkenést okozott azoknál a törzseknél, amelyiknél megfelelő volt a sejtszaporodás. Ez megegyezik SINDHU és KHETARPAUL (2001) eredményeivel, miszerint a paradicsompépet tartalmazó élelmiszerkeverékek *L. casei* és *L. plantarum* törzsekkel való fermentációja azok pH csökkenését eredményezték.

Hűtőben történő tárolás során még négy hét után is számos *Lactobacillus* törzs jelentős túlélési aránnyal, nagy sejtszámmal rendelkezett, azonban itt is jelentős különbségek akadtak egyes törzsek között. Szélsőséges esetben akár 5 log TKE/ml alá csökkent a sejtszám a 4. hétre (Uno Rosso, *L. acidophilus* N2), vagy a 0. heti 9 log TKE/ml koncentrációt is szinte teljesen megtartotta (Uno Rosso, *L. casei* 01). Törzstől és paradicsomfajtatól függően azonban a 4 hetes, 6 °C-on történő tárolást követően is általánosságban 6 – 8 log TKE/ml között alakult az élősejtszám. Ezek az eredmények megegyeznek YOON és munkatársai (2004b) által tapasztaltakkal, miszerint 4 probiotikus *Lactobacillus* törzsszel fermentált paradicsomlé 4 hetes, 4 °C-on történő tárolását követően 6 – 8 log TKE/ml sejtszám volt a jellemző. Összességében

tehát mind a probiotikus törzsek, mind a paradicsomlevelek közül szelektálhatók olyanok, amelyek jól alkalmazhatóak a tejsavasán fermentált termék kialakításához.

A fermentációs technológiai alkalmazhatóság szempontjából vizsgáltam a liofilizált és a friss tenyészetek között fellépő esetleges különbségeket. Az MRS táplevesben a liofilizált *Lactobacillus*, ugyan hosszabb lag fázis mellett, 24 óra alatt a friss tenyészettel megegyező sejtkoncentrációt eredményezett. A paradicsomlében azonban ennyi idő nem elegendő a liofilizált törzsek maximális sejtszámának elérése érdekében, ezért a liofilizált törzsek starterkultúraként történő alkalmazhatóságához további vizsgálatokra van szükség.

4.7. *Lactobacillus*-ok szelekciója a fermentációhoz

Azon felül, hogy elvégeztem az adott növényi nyersanyag vizsgálatát a fermentálhatósága és a kialakuló termék tulajdonságai alapján, kíváncsi voltam, összességében nézve mely *Lactobacillus* törzsek felelnek meg leginkább fermentációs tulajdonságaik alapján.

4.7.1. *Lactobacillus*-ok izolálása fermentált zöldségekről

A törzsgyűjteményből származó *Lactobacillus* törzsek vizsgálata mellett céломul tűztem ki, hogy tejsavasan fermentált élelmiszerekből tejsavbaktériumokat izoláljak, azokat identifikáljam és tulajdonságaik alapján szelektáljam. A *Lactobacillus*-okat fermentált zöldségekről (olívabogyóról, savanyú káposztáról, kovászos uborkáról és kimchiről) a 3.5.14. fejezetben leírt protokoll alapján izoláltam. Ezek a fermentált zöldségek házi készítésűek (spontán fermentáció) vagy feltehetőleg nem hőkezelték, ezért potenciális *Lactobacillus* források voltak. A cikloheximides MRS agaron előszelektáltam a tejsavbaktériumokat, ugyanis a cikloheximiddel kiegészített *Lactobacillus* szelektív táptalaj gátló hatással rendelkezik számos penész, élesztő és fitopatogén gomba ellen (CHEN et al., 2013). A tápagon nőtt, potenciális *Lactobacillus*-okat (36. táblázat) kataláz tesztnek vettem alá, ami a hidrogén-peroxidot bontó kataláz enzim jelenlétét jelzi. A *Lactobacillus* nemzetségbe tartozó törzsek kataláz enzim hiányában a próbára negatívan reagálnak, így pezsgés hiányában tovább vizsgáltam a baktériumot. A *Lactobacillus*-ok Gram-pozitív baktériumok, így a Gram-festés során lilára festődnek. A negatív kataláz tesztet adó és Gram-pozitív festésű baktériumtenyészetek savtermelését brómkrezolbíboros MRS agaron vizsgáltam. A baktérium savtermelésére a brómkrezolbíbor indikátor tartalmú MRS agar bíbor színről sárgára változása utal. Az így előszelektált fajok *Lactobacillus* nemzetségbe való tartozásáról PCR vizsgálattal győződtem meg.

36. táblázat: Izolált tejsavbaktériumok

Fermentált zöldség	Eredet	Izolált tejsavbaktérium jelölés
Kimchi	Ázsiai üzlet	Kimchi
(Bretas zöld) olívabogyó	Spar	Olívabogyó 1
		Olívabogyó 2
Kovászos uborka	Házi készítésű	Kovászos uborka (házi)
	Helyi piac	Kovászos uborka (bolti), zöldség
		Kovászos uborka (bolti), lé
Savanyú káposzta	Helyi piac	Savanyú káposzta, zöldség
		Savanyú káposzta, lé

4.7.2. Izolált baktériumok PCR vizsgálata

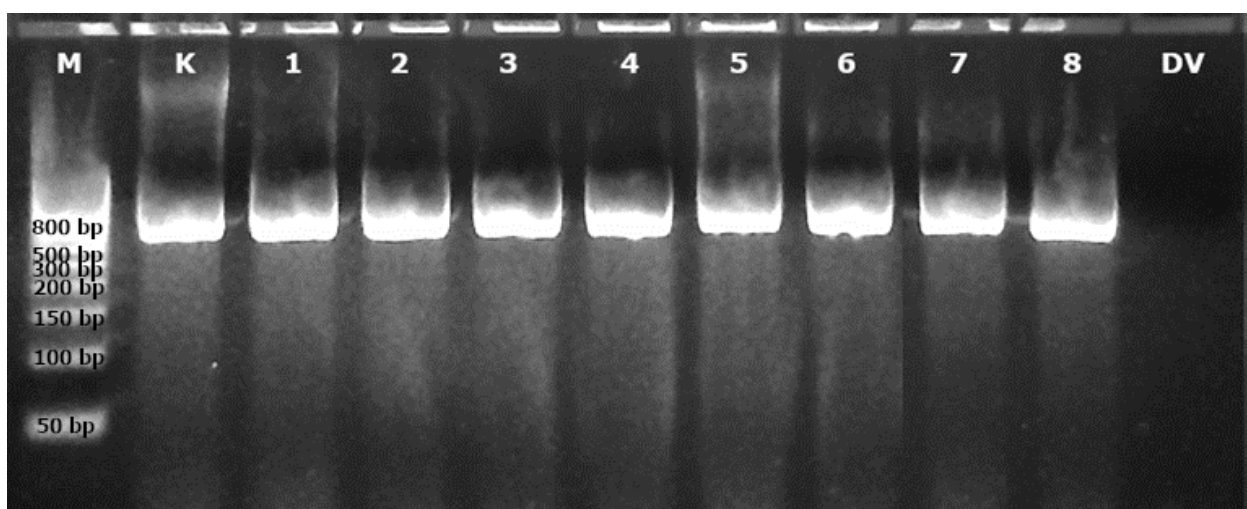
Azon célból, hogy meghatározzam, igazoljam az élelmiszerekből izolált baktériumok *Lactobacillus* nemzetségbe tartozását, PCR módszert alkalmaztam, *Lactobacillus* specifikus

primer használatával. A Wizard módszerrel izolált DNS koncentrációját és tisztaságát Colibri (Titertek-Berthold) műszerrel határoztam meg. Az általánosságban kapott 2,00 körüli érték még megfelel a DNS tisztasága szempontjából, míg a koncentráció a PCR reakcióhoz szükséges 20 ng/μl koncentrációra történő hígítás miatt lényeges (37. táblázat).

37. táblázat: Izolált tejsavbaktériumok DNS koncentrációja (ng/μl) és tisztasága (R)

Jelölés	Izolált tejsavbaktériumok	Koncentráció	R
1	Kimchi	274,36	2,20
2	Olívabogyó 1	284,18	2,14
3	Olívabogyó 2	492,99	2,14
4	Kovászos uborka (házi)	607,69	2,11
5	Kovászos uborka (bolti), zöldség	539,08	2,13
6	Kovászos uborka (bolti), lé	362,12	2,19
7	Savanyú káposzta, zöldség	201,16	2,18
8	Savanyú káposzta, lé	479,30	2,15

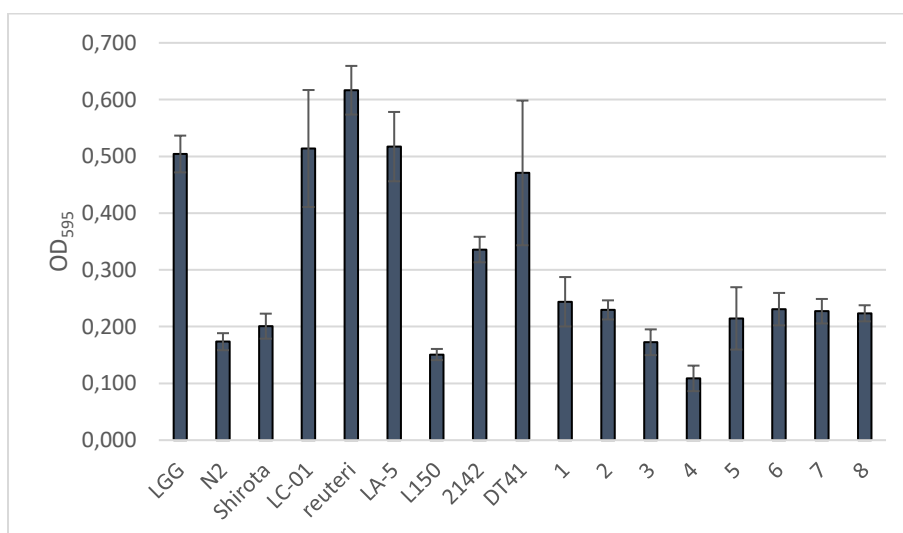
A PCR reakció lejátszódását követően gélelektroforézis segítségével szeparáltam a felsokszorozott DNS fragmentumokat. A *Lactobacillus* kimutatásához használt primerek 767 bázispár (bp) hosszúságú szakaszok felsokszorozását teszik lehetővé (M8. *Lactobacillus* primerek). A marker alapján az 500-800 bp közötti sávban megjelenő DNS fragmentum, illetve a standardként használt *L. casei* Shirota sokszorozása során a 767 bázispárnál megjelent sáv a vizsgált baktériumok *Lactobacillus* nemzetségbe való tartozását jelentik és erősítik meg (25. ábra).



25. ábra: A *Lactobacillus* specifikus primerpárra adott PCR reakció eredményei. M: marker (50/100/150/200/300/500/800/1,500 bp); K: pozitív kontrollként *L. casei* Shirota; (1) Kimchi; (2) Olívabogyó 1; (3) Kovászos uborka (bolti), zöldség; (4) Kovászos uborka (bolti), lé; (5) Savanyú káposzta, zöldség; (6) Savanyú káposzta, lé; DV: Desztillált víz, DNS mentes kontroll (vak próba)

4.7.3. Sejtaktivitás mérése MTT kolorimetriás módszerrel

Mivel az élő sejtek mitokondriális dehidrogenáz enzimeit az MTT tetrazólium gyűrűjét vízben oldhatatlan színes formazánná alakítják, így annak mennyisége, jól korrelálva az élő sejtek számával, kolorimetriásan meghatározható. Az MRS táplevesben felszaporított, 3.5.12. fejezet alapján előkészített, azonos sejtsűrűségű mikroorganizmusok enzimaktivitásának optikai denzitását 595 nm-en mértem, így az egymáshoz viszonyított sejtaktivitás kimutatható volt. A 26. ábrán látható, hogy az izolált tejsavbaktériumok lényegesen kisebb sejtaktivitást mutattak, mint a törzsgyűjteményből származó, nagyobb optika denzitást elérő *Lactobacillus*-ok. Azonban a probiotikus törzsek között (Shirota, L150) is található olyan, ami jóval alulmaradt a sejtaktivitás tekintetében. A törzsgyűjteményből a Reuteri törzs mutatta a legnagyobb sejtaktivitást, míg az izolált *Lactobacillus*-ok közül a kimchi-ről szelektált baktérium (1), aminek sejtaktivitása a 2142 és a probiotikus Shirota között helyezkedett el. Ebből kifolyólag az izolált és törzsgyűjteményből származó baktériumok aktivitását érdemes lenne nemcsak *Lactobacillus* szelektív táplevesben, hanem a gyümölcs- vagy zöldséglé fermentációjakor is vizsgálni.



26. ábra: *Lactobacillus* sejtek ((1) Kimchi, (2) Olívbogyó 1, (3) Kovászos uborka (bolti), zöldség, (4) Kovászos uborka (bolti), lé, (5) Savanyú káposzta, zöldség, (6) Savanyú káposzta, lé) 595 nm-en mért optikai denzitása a sejtaktivitás tekintetében

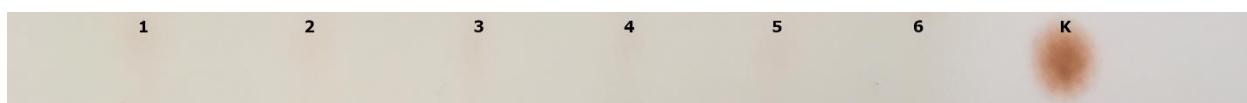
4.7.4. γ -aminovajsav kimutatása vékonyréteg kromatográfiával

Mivel egyre nagyobb figyelmet fordítanak az emberi egészségre jótékony hatással bíró γ -aminovajsavval (GABA-val) dúsított funkcionális élelmiszerek kifejlesztésére és a *Lactobacillus*-ok rendelkeznek a glutamátot GABA-vá alakító glutamát-dekarboxiláz enzimmal, a γ -aminovajsav termelésének vizsgálata is szempont lehet a törzsek szelekciója során. Az izolált és törzsgyűjteményben lévő *Lactobacillus*-ok GABA termelésének

kimutatásához 1 m/V% nátrium-glutamátot (MSG) tartalmazó MRS táplevest és vékonyréteg kromatográfiát alkalmaztam.



27. ábra: Vékonyréteg kromatográfiás vizsgálat *Lactobacillus* törzsek GABA termelésére: (1) LGG, (2) LA-5, (3) L150, (4) Reuteri, (5) LC-01, (6) Shirota, (7) 2142, (8) N2, (9) DT41, (K) GABA kontroll (20 µg/ml)



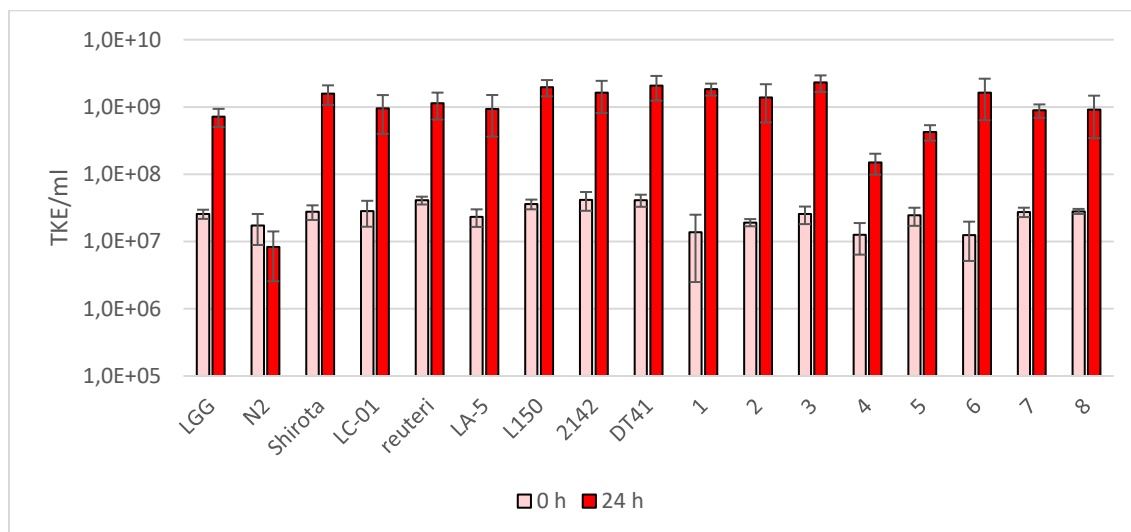
28. ábra: Vékonyréteg kromatográfiás vizsgálat izolált *Lactobacillus* törzsek GABA termelésére: (1) Kimchi, (2) Olívabogyó 1, (3) Kovászos uborka (bolti), zöldség, (4) Kovászos uborka (bolti), lé, (5) Savanyú káposzta, zöldség, (6) Savanyú káposzta, lé, (K) GABA kontroll (20 µg/ml)

Ahogy az a 27-28. ábrán is látszik, az adott körülmények között vannak törzsek, amik nagyobb mennyiségben termelnek γ -aminovajsavat. Név szerint az L150, Reuteri, Shirota, 2142 és DT41 termel láthatóan GABA-t MSG-t tartalmazó MRS táplevesben, míg az N2 halványabb foltot ad a GABA kontroll sávjában. Ezzel szemben ebben a sávban az LGG, LA-5 és LC-01 törzseknél nem jelent meg szabad szemmel látható folt. Az izolált baktériumok közül a Savanyú káposzta, lé nevezetű *Lactobacillus* viselkedik utóbbiakhoz hasonlóan (6), míg a másik 5 vizsgált izolált *Lactobacillus*-nál (Kimchi; Olívabogyó 1; Kovászos uborka (bolti), zöldség; Kovászos uborka (bolti), lé; Savanyú káposzta, zöldség) nagyon halvány folt látható. Vagyis a MSG-t tartalmazó MRS táplevesben való GABA termelés tekintetében a törzsgyűjteményből származó *Lactobacillus*-ok közül érdemes választani. Azonban, mivel a GABA termelés erősen pH függő (DHAKAL et al., 2012), érdemes a GABA mennyiségét az adott növényi nyersanyagon is vizsgálni.

4.7.5. Izolált *Lactobacillus* törzsek vizsgálata paradicsomlében

Az eddig alkalmazott növényi nyersanyagokra végzett törzsszelekciók során a törzsgyűjteményből származó probiotikus és nem-probiotikus *Lactobacillus* törzsek szaporodása és paradicsomlére kifejtett hatása mellett vizsgáltam a fermentált termékekről általam izolált *Lactobacillus* törzsek fermentációs tulajdonságait (a 476-os) paradicsomlében. A kiindulási (1% inokulum) 7 log TKE/ml sejtszámról az izolált törzsek közül, a kovászos uborkáról (házi) izolált törzs kivételével, mindegyik elérte, vagy közelítette a 9 log TKE/ml sejtszámot a 24 órás inkubáció (30 °C) alatt. Ez kétféleképpen jó eredménynek tekinthető, ugyanis a

törzsgyűjteményből származó *Lactobacillus* törzsek sejtszaporodásával nagyon hasonló eredményt mutatnak (törzsgyűjtemény 8,857 – 9,315 log TKE/ml, izolált 8,176 – 9,364 log TKE/ml) (29. ábra). A statisztikai vizsgálatokat tekintve ugyan van különbség bizonyos törzsek között (pl. LGG és L150, vagy LGG és olívabogyóról izolált között), de ez nem különül el a *Lactobacillus* származását tekintve két csoportra (M9.1. táblázat).



29. ábra: *Lactobacillus* sejtszám ((1) Kimchi, (2) Olívabogyó 1, (3) Kovászos uborka (bolti), zöldség, (4) Kovászos uborka (bolti), lé, (5) Savanyú káposzta, zöldség, (6) Savanyú káposzta, lé) (TKE/ml) változás a fermentáció során a 476-os fajta paradicsomlében

A pH a kiindulási 4,19 értékről, ha a nem jól szaporodó, kovászos uborkáról izolált *Lactobacillus* törzs kiugró 4,00 értékétől eltekintünk, 3,51 – 3,77 közé csökkent. Az eddig mért paradicsomlevekekhez képest az eredeti, kiindulási 476-os minta összes oldott szénhidrát-tartalma viszonylag nagy volt (6,2%), ami a fermentáció során lecsökkent és végül 5,2 – 5,9% között alakult. A titrálható savtartalom alapján ez a paradicsomfajta savasabbnak volt mondható (1,0449 m/V%), a fermentációt követően pedig legalább másfélszeresére növekedett a savtartalom. Viszont ebben a mért paraméterben is csak a házi kovászos uborkáról izolált törzs eredményezett kiugró értéket és mutatott kisebb savtermelést (1,3152 m/V%) a kisebb sejtszaporodás eredményeképp (M9.2. táblázat). Ebből kifolyólag érdemes lenne ezen törzsek további vizsgálatával, esetleges probiotikus voltaival foglalkozni, a jó fermentációs tulajdonsággal rendelkező törzsek probiotikus tulajdonságának vizsgálatára ugyanis eddig kevesen vállalkoztak (SÁNCHEZ et al., 2012). A későbbiekben javasolt továbbá a nyers zöldségről, gyümölcsről izolálni *Lactobacillus* törzset, ami a tejsavas erjedés starterkulturájaként alkalmazható lenne, ugyanis számos szakirodalom rávilágított ezen (a növényi nyersanyag természetes körülmények között jelen lévő) mikroorganizmusok előnyeire a jobb technológiai és funkcionális tulajdonságokkal rendelkező erjesztett termékek előállításának érdekében (VERÓN et al., 2017, VERÓN et al., 2019).

4.8. Konklúzió

Az összesített hőterkép diagram (38. táblázat) alapján látszik, hogy nincs adott *Lactobacillus* törzs, ami a vizsgált növényi nyersanyagok mindegyikében egységesen jobban szaporodott volna. Általánosságban viszont elmondható, hogy – a tejsavbaktériumok szaporodásához szükséges környezet megteremtését követően is – csak a meggylében sikerült elérni kifejezetten nagy, 9 log TKE/ml feletti sejtszámot az összes vizsgált törzssel. Azonban minden nyersanyag fermentálása során sikerült szelektálnom legalább egy olyan *Lactobacillus* törzset, ami közelítette ezt a sejtkoncentrációt.

38. táblázat: *Lactobacillus* törzsek élősejtszám alakulásának vizualizációja hőterkép formában, adott növényi nyersanyagban, 24 óra fermentációt követően. A hőterkép sorai az egyes zöldég-, illetve gyümölcslének felelnek meg, az oszlopok a baktérium törzseket jelölik

		LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
Narancs	Sűrítmény	9,221	n.a.	8,612	9,086	9,692	7,779	n.a.	n.a.	n.a.
	Nem-sűrítmény	8,305	9,345	7,326	9,262	9,219	9,460	n.a.	n.a.	n.a.
	Frissen facsart	9,233	6,889	8,319	9,461	9,477	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Meggy	Újfehértói f.	9,354	9,425	9,377	9,307	9,301	9,341	9,138	9,167	9,363
	Petri	9,127	9,538	9,598	9,333	9,282	9,349	9,233	9,094	9,216
Szilva	Ageni	8,824	n.a.	8,178	8,942	8,917	8,282	9,215	8,950	9,174
	Stanley	8,873	n.a.	8,705	8,921	8,802	8,908	9,091	9,100	9,075
Fekete berkenye	Nero	6,942	6,699	8,084	7,211	6,699	8,587	8,363	8,410	8,452
	Viking	6,884	7,789	8,391	8,536	8,728	8,812	8,635	8,641	8,876
Birsalma	Angersi	6,138	6,273	8,704	8,579	6,211	8,865	8,540	8,776	8,590
	Csokonai	6,211	6,176	8,622	8,560	5,824	8,561	8,824	8,661	8,689
Paradicsom	Mobil	7,993	9,000	8,987	9,079	8,762	7,176	8,926	9,251	8,895
	Uno Rosso	8,938	8,945	9,295	9,372	9,219	8,200	8,896	9,514	9,195
	Cherrola	9,130	n.a.	8,950	9,154	n.a.	n.a.	8,832	9,177	n.a.

> 9 log TKE/ml
 = 9 log TKE/ml
 = 8 log TKE/ml
 = 7 log TKE/ml
 < 7 log TKE/ml. n.a. = nincs adat

Az adott nyersanyagra való törzsszelekció fontosságát reprezentálja, hogy a törzsgyűjteményből származó 9 vizsgált *Lactobacillus* törzs közül valamennyi kiemelkedően teljesített a szaporodás szempontjából legalább egy adott nyersanyagban (kizárólag az LGG és Shirota törzsek azok, amik egyik lében sem produkálták a legnagyobb sejtszámot). A legnagyobb sejtszámot több esetben (Petri és Újfehértói meggyfajták, Angersi birsalmafajta) is probiotikus törzssel sikerült elérni, ami ellentmond annak az általános feltételezésnek, miszerint a probiotikus törzsek nem rendelkeznek olyan jó technológiai tulajdonságokkal, mint a nem-probiotikus tejsavbaktériumok. Jelenleg ugyanis a kereskedelmi törzseket nagyrészt a technológiai tulajdonságaik alapján választják ki, kizárva ezzel számos olyan törzset, ami ígéretes lehet a fogyasztó egészségének megőrzése tekintetében (LACROIX & YILDIRIM, 2007).

A *Lactobacillus*-ok a gyümölcslevelekben megtalálható egyszerű cukrokat képesek metabolizálni, növelve a termék savtartalmát (SENGUN et al., 2019). A megfelelő élősejtszám elérése esetén a pH minden esetben a mikrobiológiai biztonság szempontjából elegendő mértékre csökkent le. A bioaktív komponensek növekedése által még nagyobb hozzáadott értékű termék hozható létre, azonban azok csökkenése sem jelent elsősorban negatívumot, mivel a probiotikus mikroorganizmusok képesek a gyümölcsben lévő fenolos vegyületeket gyorsan elfogyasztani, megnövelve saját túlélésüket (OZCAN et al., 2015). A kapott eredményeim alapján arra is kíváncsi voltam, hogy a fermentáció hatására a bioaktív komponensekben fellépő változás mely nyersanyagon volt összességében a legkedvezőbb (39. táblázat). Amennyiben növekedés lépett fel a kiindulási (0 h) értékhez képest, 1-es számmal jelöltem, ha nem történt változás, 0, míg csökkenés esetén -1 értéket kapott a törzs az adott gyümölcsön. A maximális pontszám annak felelt meg, amennyit összesen akkor kapott volna a gyümölcsfajta, ha mindhárom mért bioaktív komponensben az összes alkalmazott törzs növekedést eredményezett volna. Ez alapján egy százalékos összesített értéket számítottam.

39. táblázat: A fermentáció hatására fellépő változás a bioaktív komponensekben a kiindulási értékhez képest (növekedés 1, csökkenés -1, nincs változás 0) és az összesített százalékos értékük az adott növényi nyersanyagon

		LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41	Összesített	
Meggy	Újfehértói fűrtös	Polifenol	1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	51,85%
		FRAP	0	1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	
		DPPH	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	Petri	Polifenol	1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	77,78%
		FRAP	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
		DPPH	1	1	1	1	1	1	1	-1	1	
Szilva	Ageni	Polifenol	-1	n.a.	-1	1	-1	-1	1	-1	1	20,83%
		FRAP	1	n.a.	1	1	0	1	1	-1	1	
		DPPH	-1	n.a.	1	1	-1	1	1	-1	1	
	Stanley	Polifenol	-1	n.a.	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-45,83%
		FRAP	-1	n.a.	-1	-1	1	-1	-1	-1	-1	
		DPPH	-1	n.a.	-1	1	1	1	1	0	1	
Fekete berkenye	Nero	Polifenol	1	1	1	1	1	1	1	1	1	70,37%
		FRAP	1	1	-1	1	1	1	1	1	1	
		DPPH	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	
	Viking	Polifenol	-1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-25,93%
		FRAP	1	1	1	-1	-1	1	1	1	1	
		DPPH	1	1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	

n.a. = nincs adat

Így, a három gyümölcs közül a meggy bizonyult leginkább megfelelő nyersanyagnak a tejsavas fermentáció során fellépő változás szempontjából, ugyanis mindkét fajtánál jelentős növekedés volt megfigyelhető összességében a bioaktív komponensek tekintetében. A fekete törpeberkenyénél a Nero fajtánál szintén nagy az összesített pontszám, a Viking berkenyénél azonban átlagosan csökkenést tapasztaltam. Hasonlóan a szilvánál is, az Ageninél ugyanis minimális a növekedés, a Stanley fajtánál viszont nagyobb számban volt csökkenés, mint növekedés a bioaktív komponensek mennyiségében. Eredményeim alátámasztják RANADHEERA és munkatársai (2010) állítását, miszerint a probiotikus baktériumok növekedését, életképességét egyaránt befolyásolja a mikrobiális törzs és a gyümölcslé összetétele (savasság, szénhidrát tartalom, nitrogénforrás). A tárolási hőmérsékleten felül a tejsavbaktériumok túlélése függött a nyersanyag fajtájától és típusától, több nagyságrendnyi különbség volt például a narancslé és a paradicsomlé tárolása során az LA-5 sejt számában a 4. héten: nem-sűrítmenyből készült narancslében 0,166 log TKE/ml, Uno Rosso paradicsomlében 3,526 log TKE/ml csökkenést mértem az élősejtszámban. Fermentált gyümölcslevek (narancs, grapefruit, fekete ribizli, ananász, gránátalma, áfonya és citrom) *L. plantarum* törzsszel való fermentációját követő tárolása során is rendkívül nagy különbségeket (0,02 – 8,02 log TKE/ml csökkenés) figyeltek meg az élősejtszámban a tárolás 6. hetén a nyersanyag típusától függően (NUALKA EKUL & CHARALAMPOPOULOS, 2011).

Vizsgálataim alapján tehát elmondható, hogy a megfelelő tejsavbaktériumok alkalmazásával és azok szaporodásához szükséges feltételek megteremtésével lehetőség van tejsavas fermentált termék kialakítására, ami tartalmazza a kívánt 9 log TKE/ml élősejtszámot. Így olyan, az egészség megőrzéséhez hozzájáruló termék kialakítására van lehetőség, amely beilleszthető a mindennapi étkezésbe, továbbá összeegyeztethető a vegán étrenddel, és a tejfehérje allergiában vagy laktóz intoleranciában szenvedőknek sem kellene lemondaniuk a probiotikus élelmiszerek nyújtotta, egészségre gyakorolt előnyökről.

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Minden vizsgált növényi nyersanyagra sikerült szelektálnom olyan *Lactobacillus* törzset, ami által a romlandó és kisebb értéket képviselő zöldségből, gyümölcsből egy eltarthatóbb, bizonyos esetekben kedvezőbb érzékszervi és élettani tulajdonságokkal rendelkező termék alakult ki. A biotartósításnak köszönhetően mesterséges adalékanyagot nem igénylő eljárással előállított, probiotikus törzset tartalmazó terméket hoztam létre, amely beilleszthető a mindennapi étkezésbe. Az így készült, tartósítószer-mentes gyümölcs- és zöldséglevék a fermentációból eredő természetes savasságuk mellett megtartják érzékszervi tulajdonságaikat és mindemellett beltartalmi tulajdonságaikban sem történik lényegi változás, sőt egyes esetekben megnövekszik a bennük található bioaktív komponensek mennyisége. Ezen termékek, illetve a gyártástechnológia (az optimalizáció, a fermentációs és a tárolási paraméterek ismerete), nemcsak a probiotikumok, de maguk a zöldségek és gyümölcsök bővülő termékínálatát is jelentheti.

A fermentált élelmiszerek előállításához, a termék ízének vagy biztonságának biztosítása érdekében, két vagy több faj (kevert tenyészet) is alkalmazható (ZHOU et al., 2020). A többféle *Lactobacillus* kevert tenyészetként történő alkalmazása nem újkeletű dolog például tejsavtermelésnél a szubsztrát konverzió hatékonyságának növelése érdekében (CUI et al., 2011). A mikroorganizmusok pozitív hatással lehetnek egymásra: nagyobb élősejtszámot, szerves sav termelést és gyökfogó kapacitást eredményezhetnek, mint a tiszta tenyészet (BAGHER HASHEMI & JAFARPOUR, 2020). Ezáltal növelhető lenne egy kevésbé jól szaporodó probiotikus *Lactobacillus* életképessége egy jó fermentációs tulajdonságokkal rendelkező, de nem-probiotikus törzs vagy akár más nemzetségbe tartozó baktérium által, szinergens hatást kifejtve. Ez nemcsak a sejtszám, de az anyagcsere termékek, bioaktív komponensek mennyiségének növekedését is eredményezhetné a fermentált termékben.

A gyümölcsök, más szubsztráthoz hasonlítva, szabad aminosavtartalma lényegesen kisebb (RUIZ RODRÍGUEZ et al., 2020). A tejsavbaktérium szaporodása szempontjából ez limitáló tényező lehet, ahogy az általam vizsgált gyümölcsleveknel is megfigyelhető volt, hogy a tejsavbaktériumok nagy szerves nitrogén-forrás igénye miatt fehérjekiegészítésre szorultak. Ezért egyrészt az élesztőkivonattal való kiegészítés helyett javasolható inaktív élesztő alkalmazása, ami javítja a nitrogénvegyületek asszimilációját és tápanyagot biztosít a baktériumnak (ŠUKLJE et al., 2016). Másrészt ajánlott lenne a gyümölcslé és egy nagyobb fehérjetartalmú növényi nyersanyaggal való kevert ital tejsavas fermentációjának vizsgálata is és jelenleg is zajlanak ezzel kapcsolatos kísérletek (például fekete berkenyelé szójaitallal való kombinációja). Így akár hozzáadott adalékanyagot nem igénylő terméket lehetne létrehozni. A narancslénél vizsgált inulin helyett természetes, növényi prebiotikus komponens hozzáadásával tovább növelhető lenne a *Lactobacillus* szaporodása, túlélése a nyersanyagokon, ezért érdemes lenne például csicsókával, articsókával kevert gyümölcs-, zöldséglevék fermentációs kísérleteit is elvégezni (LAVERMICOCCA et al., 2016). A zöldborsó fermentációjára is voltak

kísérleteim, ami a paradicsomléhez hasonlóan megfelelő környezetet biztosított a tejsavbaktériumok szaporodásához, a kialakult organoleptikus tulajdonságok alapján azonban csak mint kiegészítő nyersanyag javasolnám a további kísérletekhez.

A tejsavasán fermentált zöldségekről izolált *Lactobacillus*-ok sejtszaporodás tekintetében hasonlóan jó fermentációs tulajdonságokkal rendelkeztek, mint a törzsgyűjteményből származó törzsek. Ebből kifolyólag érdemes lenne ezen törzsek további vizsgálatával (gyomor- és epesavtűrés), esetleges probiotikus voltával foglalkozni, a jó fermentációs tulajdonsággal rendelkező törzsek probiotikus tulajdonságának vizsgálatára ugyanis eddig kevesen vállalkoztak. A későbbiekben javasolt továbbá a nyers zöldségről, gyümölcstről izolálni *Lactobacillus* törzset, ami a tejsavas erjedés indítókultúrájaként alkalmazható lenne, ugyanis számos szakirodalom rávilágított ezen (a növényi nyersanyagon természetes körülmények között jelen lévő) mikroorganizmusok előnyeire a jobb technológiai és funkcionális tulajdonságokkal rendelkező erjesztett termékek előállításának érdekében (VERÓN et al., 2017, VERÓN et al., 2019).

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Meghatároztam a különböző gyümölcslevek tejsavas fermentációjához szükséges optimális tápanyag kiegészítéseket, pH értékeket, gyümölcslé hígítási arányokat. A narancslé esetében 7,00-es pH mellett az optimális mennyiség dextrózra vonatkoztatva 60 g/l, amennyiben 2 g/l élesztőkivonatot alkalmazunk tápanyag kiegészítésként. A meggylenél az optimális kiindulási értékek 5,80-as pH, 3 g/l hozzáadott élesztőkivonatot, valamint 6 : 4 (V/V) arányban vízzel való hígítás. A szilvalé esetében 6,50 értékre állított pH mellett az ideális mennyiség élesztőkivonatra vonatkoztatva 6 g/l, amennyiben a szilvalevet vízzel egészítjük ki 5,5 : 4,5 (V/V) arányban. A fekete berkenyelénél a pH-t 4,50 értékre szükséges beállítani, amely mellett 5,62 g/l hozzáadott peptonra van szükség, ha a fekete berkenyevet vízzel egészítjük ki 8 : 2 (V/V) arányban. A birsalmalé fermentációjához 6,00-os pH mellett az optimális mennyiség peptonra vonatkoztatva 5 g/l, amennyiben a birsalmalevet vízzel egészítjük ki 8 : 2 (V/V) arányban.

2. Minden alkalmazott nyersanyagra sikeresen szelektáltam olyan *Lactobacillus* törzset, ami elérte, vagy közelítette a kívánt 9 log TKE/ml élősejtszámot. A törzsszelekció fontosságát mutatja, hogy nem minden nyersanyagon ugyanaz a törzs érte el a legnagyobb sejtszámot, valamint ugyanaz a törzs nem ugyanúgy viselkedett minden gyümölcs/zöldséglében. Továbbá nemcsak a nyersanyag típusa, hanem a zöldség és gyümölcs fajtája is befolyásolja az alkalmazni kívánt törzs szaporodását, ezért rendkívül fontos az adott kiindulási nyersanyagra, fajtára történő starterkultúra szelekció. A nem-sűrítmenyből készült narancslé esetében a *L. reuteri* DSM 17938, míg a sűrítmenyből készült és a frissen facsart narancslénél a *L. casei* 01 starterkultúraként történő alkalmazásával értem el a legnagyobb élősejtszámot. Az Újfehértói fürtös meggyre nézve a *L. acidophilus* LA-5, a Petri fajtára a *L. acidophilus* 150; az Ageni szilvánál a *L. plantarum* 2142, a Stanley fajtánál a *L. acidophilus* N2; az Angersi birsalmára nézve a *L. reuteri* DSM 17938, a Csokonai fajtára pedig a *L. plantarum* 2142 törzs eredményezte a legnagyobb sejtszámot a beállított paraméterek mellett. Az általam vizsgált paradicsomfajták közül az élősejtszám tekintetében az Uno Rosso fajtát érdemes választani a paradicsomlé tejsavas fermentációjához, amelynek erjesztésekor a legnagyobb sejtszámot a *L. acidophilus* N2 starterkultúraként történő alkalmazása eredményezte.

3. A meggy fermentáció eredményeivel bizonyítottam, hogy a fermentációt követően nincs szignifikáns különbség probiotikus (*L. rhamnosus* GG, *L. casei* Shirota, *L. reuteri* DSM 17938, *L. acidophilus* 150, *L. acidophilus* LA-5, *L. casei* 01) és nem-probiotikus (*L. acidophilus* N2, *L. plantarum* 2142, *L. fermentum* DT41) törzsek sejtszámában, valamint a legnagyobb sejtszámot is bizonyítottan probiotikus törzs eredményezte a két meggyfajtában. Hasonló eredményre jutottam a paradicsomlénél is, ahol a szaporodás és túlélés tekintetében egy probiotikus (*L. casei* Shirota) törzs bizonyult kiemelkedőnek.

4. Kutatásaim során olyan tejsavas fermentált, növényi alapú termékeket fejlesztettem, amelyek nagy számban tartalmaznak az adott nyersanyagon felszaporodott probiotikus kultúrát

és hűtőszekrényben történő tárolás esetén akár 8 hét múlva is tartalmazzák az ajánlott élősejtszámot.

5. Az általam felállított protokoll (cikloheximides MRS agar, kataláz teszt, Gram festés, brómkrerzoliboros MRS agar) alapján nem hőkezelt, kereskedelmi forgalomban kapható, illetve házi készítésű fermentált zöldségekről (kimchi, olívabogyó, savanyú káposzta, kovászos uborka) izoláltam olyan, igazoltan a *Lactobacillus* nemzetségbe tartozó törzseket, amelyek jó fermentációs tulajdonsággal rendelkeznek.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Annak ellenére, hogy a fogyasztói igény a nem-tejalapú probiotikus termékek iránt növekszik, a probiotikus élelmiszerként forgalomba hozott termékek legnagyobb része tejipari készítmény. Így azon fogyasztók, akik egészségi vagy életviteli okokból nem fogyaszthatnak tejtermékeket, nem élvezhetik a probiotikus készítmények kedvező hatásait. A probiotikus törzsek zöldségekkel és gyümölcsökkel való kombinációja azonban képes egyszerre biztosítani a szervezet számára szükséges probiotikumokat és élelmi rostokat, ezáltal a növényi alapú probiotikus élelmiszerek fejlesztése fontos irány a probiotikus termékek területén. A tejsavas fermentáció kedvező hatásainak köszönhetően pedig a legjobb megközelítés a fejlesztésre a gyümölcsök és zöldségek probiotikus törzsekkel való tejsavas erjesztése.

A leginkább alkalmas nyersanyag kiválasztása és a széles termékpaletta létrehozása érdekében több, elsősorban hazai termesztésű gyümölcs és zöldség (meggy, szilva, fekete törpeberkenye, birsalma, paradicsom) fermentációs vizsgálatait végeztem el *Lactobacillus* starterkultúra alkalmazásával. Mindemellett a leginkább közkedvelt és legszélesebb körben fogyasztott gyümölcslé, a narancslé tejsavas erjesztését is megvalósítottam. Az élősejtszám meghatározását Miles és Misra módszerrel végeztem el. A megfelelő sejtszaporodás, vagyis probiotikus élősejtszám meglétén felül a törzsszelekció során a *Lactobacillus* törzsek metabolizmusának (szerves sav termelés) és a nyersanyagra kifejtett hatásának (összes oldott szárazanyag-tartalom, pH) vizsgálatát, valamint a tejsavasán fermentált zöldség-, illetve gyümölcslé összes polifenol tartalom, antioxidáns és gyökfogó kapacitás mérését mikrobiológiai és analitikai módszerekkel valósítottam meg.

Jóllehet a tejsavbaktériumok tápanyagigénye igen összetett – saját szintézis hiányában különböző aminosavakra, vitaminokra és nukleotidokra van szükségük a szaporodáshoz –, a paradicsomlevekről általánosságban elmondható, hogy ideális nyersanyagnak bizonyultak probiotikus kultúrát tartalmazó, tejsavasán fermentált termék előállításához, mivel a természetes mikroflóra lecsökkentésén (pasztörözés) kívül nem szükséges egyéb kezelés a tejsavbaktériumok elszaporodásához. A gyümölcsök fehérjetartalma azonban változó, más szubsztráthoz (pl. tej, szójatej) hasonlítva szabad aminosavtartalmuk lényegesen kisebb. A tejsavbaktérium szaporodása szempontjából ez limitáló tényezőnek bizonyult, a vizsgált gyümölcslevek minden esetben valamilyen fehérje-kiegészítésre (élesztőkivonat, bakteriológiai pepton) szorultak a tejsavbaktériumok nagy szerves nitrogén-forrás igénye miatt. A probiotikus mikroorganizmusok érzékenyek a nagyon kis pH értékre, a gyümölcsök kisebb pH-ja korlátozza a baktériumok növekedését és stabilitását, a gyümölcsök nagy savtartalma a levek esetén viszont könnyen szabályozható volt. Ugyanakkor egyes gyümölcsök nagy polifenol tartalma is nehézséget okozott a sejtek szaporodása tekintetében, amit a levek hígításával sikerült kiküszöbölnöm. A kiegészítő tápanyagok meghatározását, a fermentáció paramétereinek beállítását – azok optimális értékeit statisztikai vizsgálatokkal megállapítva –, minden esetben az adott gyümölcsre végeztem el.

Narancslénél a megfelelő fermentációhoz szükséges optimális paramétereket 2 g/l élesztőkivonattal és 60 g/l dextrózzal való kiegészítésként állapítottam meg, semleges pH (7,00) mellett. Az így kiegészített sűrítmenyből készített narancslében a legnagyobb sejtszámot a fermentáció során a *L. casei* 01 (9,692 log TKE/ml) starterkulturaként való alkalmazása eredményezte, amely életképességét 6 hetes, hűtőszekrényben (6 °C) történő tárolást követően is megőrizte. A nem-sűrítmenyből készült narancslénél a *L. reuteri* DSM 17938 törzssel sikerült elérni a legnagyobb élősejtszámot (9,460 log TKE/ml) a fermentáció során, míg a frissen facsart narancslé esetében, a sűrítmenyhez hasonlóan, a *L. casei* 01 törzssel (9,477 log TKE/ml). Ugyan a *L. acidophilus* LA-5 starterkulturával 24 óra alatt nem sikerült elérni a maximális sejtszámot, a szobahőmérsékleten való tárolás kedvezett a tejsavbaktérium szaporodásának, így a frissen facsart, optimalizált narancslé a 6 hetes tárolást követően is 8 log TKE/ml élősejtszámot tartalmazott. A tárolási kísérlet során megállapítottam, hogy a Weibull modell alkalmas a *Lactobacillus* törzsek narancslében való túlélésének becslésére, amely által meghatározható az a tárolási idő, ahol még megfelelő számú élő sejt van jelen.

A feldolgozott meggyhez 3 g/l élesztőkivonat hozzáadására volt szükség, amennyiben a meggylevet vízzel egészítettem ki 6 : 4 (V/V) arányban (6 ml meggylé, 4 ml víz), majd ennek pH-ját 5,80-ra állítottam az optimális sejtszaporodás érdekében. Jóllehet a törzsszelekció során alkalmazott valamennyi törzssel sikerült elérni a kívánt 9 log TKE/ml telepszámot, egyes *Lactobacillus* törzsek élősejtszámában szignifikáns különbséget tapasztaltam. Az Újfehértói fűrtösnél a *L. acidophilus* LA-5 eredményezte a legnagyobb sejtszámot (9,425 log TKE/ml), ami csak a *L. plantarum* 2142 és *L. acidophilus* N2 törzssel szemben bizonyult szignifikánsan nagyobbak. Míg a Petri fajtánál a *L. acidophilus* 150 eredményezte a legnagyobb sejtszámot (9,598 log TKE/ml), ami szignifikáns különbségnek bizonyult a többi, kivéve a *L. acidophilus* LA-5, törzssel szemben. Ugyan a törzsek sejtszámára nézve nincs szignifikáns különbség a meggyfajták között, a bioaktív komponensek fermentáció során fellépő változásában már jelentős különbségek adódtak. Így, a gyökfogó kapacitás szempontjából az Újfehértói fűrtöst, míg az antioxidáns kapacitás szempontjából a Petri fajtát célravezető választani a fermentációhoz.

A szilva fermentációs paramétereinek optimalizálása során azt az eredményt kaptam, hogy minél nagyobb a pH és a hozzáadott élesztőkivonat koncentrációja, annál nagyobb a *Lactobacillus* sejtszám. A cél ugyan a sejtszám maximalizálása, de élelmiszer-fejlesztéskor érdemes szem előtt tartani a kiegészítő anyagok minimalizálását is. Mivel a 9 log TKE/ml élősejtszámot már 6 g/l élesztőkivonat hozzáadása és a pH 6,50 értékre állítása esetén elérte, ezért a hígítás (szilvalé : víz = 5,5 : 4,5 (V/V)) mellett ezt a kiegészítést és beállítást alkalmaztam a törzsszelekció során. Az Ageni szilvafajta esetében a *L. plantarum* 2142 és *L. fermentum* DT41 érte el a 9 log TKE/ml sejtszámot, a legnagyobb növekedési rátát viszont a probiotikus *L. casei* Shirota eredményezte. A Stanley fajtánál három törzs, a *L. plantarum* 2142, *L. acidophilus* N2 és *L. fermentum* DT41 érte el a 9 log TKE/ml sejtszámot a beállított paraméterekkel rendelkező szilvalében, míg a növekedés mértéke a probiotikus *L. reuteri* DSM 17938 törzsnél volt kiugró, ami szintén közelítette a 9 log TKE/ml élősejtszámot. A fermentációt követően az Ageni bizonyult megfelelő választásnak az összes polifenol tartalom

és az antioxidáns kapacitás tekintetében, ugyanis míg a Stanley majdnem az összes választott törzs esetében csökkenést mutatott, addig az Ageni szilvalében a törzsek jellemzően növekedést eredményeztek ezen bioaktív komponensek mennyiségében.

A fekete törpeberkenyénél a legnagyobb sejtszám növekedést, 8 : 2 = berkenyelé : víz (V/V) arányban hígított levét alkalmazva, 5,62 g/l pepton hozzáadása és pH 4,50 értékre való beállítása mellett értem el. Így a Néró fajtánál a legnagyobb sejtszámot eredményező *L. reuteri* DSM 17938 (8,587 log TKE/ml) szignifikánsan különbözik majdnem az összes többi törzstől, ami javarészt annak köszönhető, hogy bizonyos törzsek sejtszámában csökkenést figyeltem meg. A sejtszámok alakulása bizonyítja, hogy a nyersanyag fajtája is befolyásolja a fermentációt, ugyanis a Viking berkenyében, egy kivételével, az összes törzs egy nagyságrendnyi növekedést mutatott, a legnagyobb sejtszámot pedig a *L. fermentum* DT41 (8,876 log TKE/ml) starterkultúraként történő alkalmazásakor mértem.

Mivel 5 g/l pepton hozzáadása és a pH 6,00 értékre történő állítása is közel 9 log TKE/ml sejtszámot eredményezett a birsalma tejsavas fermentációjakor, ezért a 8 : 2 = birsalmalé : víz (V/V) arányú hígítása mellett ezt a kiegészítést és beállítást alkalmaztam a törzsszelekció során. A törzsek sejtszám növekedése vagy csökkenése nagyon hasonlóan alakult a vizsgált két fajtában, vagyis a *Lactobacillus*-ok nem preferálják egyik vagy másik fajtát. Az Angersi birsalmalénél a *L. reuteri* DSM 17938 törzsszel (8,865 log TKE/ml), míg a Csokonai fajtánál a *L. plantarum* 2142 törzsszel (8,824 log TKE/ml) sikerült elérni a legnagyobb élősejtszámot a fermentáció során.

A vizsgált gyümölcsökkel szemben a tejsavbaktériumok paradicsomlében történő megfelelő szaporodásához a nyersanyag tápanyag-kiegészítésre, paraméter beállításra nem szorul. Annak ellenére, hogy egyes törzsek eltérően viselkedtek a különböző fajtáknál, a Mobil (9,251 log TKE/ml), az Uno Rosso (9,514 log TKE/ml) és a Cherrola (9,177 log TKE/ml) paradicsomlében is egyaránt a *L. acidophilus* N2 érte el a legnagyobb sejtszámot. Azonban a probiotikus *L. casei* Shirota sem sokkal maradt alul a sejtszaporodásban. Az eredményeket összevetve pedig az látszik, hogy a *Lactobacillus*-ok összességében az Uno Rossoban szignifikánsan jobban szaporodnak, nagyobb sejtszámot érnek el, mint a Cherrola vagy a Mobil fajtában. A tárolási kísérlet során a legjobb túlélési eredményeket a Cherrola paradicsomlében kaptam (0,86 – 0,94), ennél a fajtánál mindegyik törzs esetén a négy hetes tárolást követően a sejtek 85%-a életképes volt.

Bizonyos növényi eredetű tejsavbaktériumok ugyan fokozatosan alkalmazásra kerültek zöldség- gyümölcsle erjesztéséhez, de a nyersanyagok különbözősége miatt egyetlen faj nem használható fel az összes gyümölcs és zöldség erjesztésére. Eredményeimből megállapítható, hogy valóban rendkívül fontos az adott nyersanyagra történő starterkultúra szelekció, ugyanis akár fajon belül is jelentős különbségeket mértem a *Lactobacillus* törzsek között – mind a szaporodás és túlélés, mind az anyagcseretermékek és nyersanyagra kifejtett hatásuk tekintetében. Nem volt adott *Lactobacillus* törzs, ami a vizsgált növényi nyersanyagok mindegyikében egységesen jobban szaporodott volna. Azonban minden nyersanyag fermentálása során sikerült szelektálnom legalább egy olyan *Lactobacillus* törzset, ami elérte

vagy közelítette a kívánt 9 log TKE/ml sejtkoncentrációt a szaporodásához szükséges feltételek megteremtése mellett. Ugyan a bizonyítottan probiotikus törzsek mellett jó fermentációs tulajdonsággal rendelkező, de nem-probiotikus törzseket is vizsgáltam a fermentációs képesség vonatkozásában, a legnagyobb sejtszámot, túlélést több esetben is probiotikus törzs eredményezte. Ezek alapján kijelenthető, hogy a megfelelő szelekcióval több hónapig eltartható termék állítható elő, ami tartalmazza az ajánlott, élő probiotikus sejtszámot. A tejsavas fermentáció nemcsak kiváló alternatívát nyújt a zöldségek és gyümölcsök természetes úton történő tartósítására, de a technológiának köszönhetően akár megnövekedhet a nyersanyagban található bioaktív komponensek mennyisége is, ami által olyan, az egészség megőrzéséhez hozzájáruló termék kialakítására van lehetőség, amely beilleszthető a mindennapi étkezésbe, továbbá összeegyeztethető a vegán étrenddel, és a tejfehérje allergiában vagy laktóz intoleranciában szenvedőknek sem kellene lemondaniuk a probiotikus élelmiszerek nyújtotta egészségre gyakorolt előnyökről.

SUMMARY

Although the number of consumers that take non-dairy probiotic products grows, still most of the probiotic products sold as food are dairy products. Thus, consumers who cannot consume dairy products for health or lifestyle reasons cannot enjoy the beneficial effects of probiotic products. However, the combination of probiotic strains with vegetables and fruit can simultaneously provide the probiotics and dietary fibers needed by the human body, thus the development of plant-based probiotic foods is an important direction in the field of probiotic products. Due to the beneficial effects of lactic acid fermentation, the best approach for development is the lactic acid fermentation of fruits and vegetables with probiotic strains.

In order to select the most suitable raw material and create a wide range of products, I performed fermentation experiments on several mainly domestically grown fruit and vegetables (cherry, plum, black chokeberry, quince, tomato) using *Lactobacillus* starter culture. In addition, I also carried out the lactic acid fermentation of the most popular and widely consumed fruit juice, orange juice. The living cell number was determined using the Miles and Misra method. In addition to the existence of the appropriate cell proliferation, i.e. probiotic living cell number, during the strain selection, the examination of the metabolism of the *Lactobacillus* strains (organic acid production) and their effect on the raw material (total soluble solid, pH), as well as the total polyphenol content of the lactic acid-fermented vegetable or fruit juice, I carried out the measurement of antioxidant and radical scavenging capacity using analytical methods.

Although the nutritional requirements of lactic acid bacteria are very complex – in the absence of their own synthesis, they need different amino acids, vitamins and nucleotides for reproduction – it can generally be said of tomato juices have proven to be an ideal raw material for the production of a lactic acid fermented product containing probiotic culture, since apart from the reduction of the natural microflora (pasteurization) no other treatment is necessary for the proliferation of lactic acid bacteria. However, the protein content of fruit varies, compared to other substrates (e.g. milk, soy milk) their free amino acid content is significantly lower. This proved to be a limiting factor from the point of view of the reproduction of lactic acid bacteria, the examined fruit juices in all cases needed some kind of protein supplement (yeast extract, bacteriological peptone) due to the need for a large source of organic nitrogen for lactic acid bacteria. Probiotic microorganisms are sensitive to very low pH values, the lower pH of fruit limits the growth and stability of bacteria, but the high acid content of fruit was easily controlled in the case of juices. At the same time, the high polyphenol content of some fruit also caused difficulties in cell proliferation, which I managed to eliminate by diluting the juices. I determined the additional nutrients and the setting of the fermentation parameters for every given fruit in each case and their optimal values were determined by statistical tests.

For orange juice, I established that the optimal parameters required for fermentation is the addition of 2 g L⁻¹ yeast extract and 60 g L⁻¹ dextrose at (adjusted) neutral pH (7.00). The use of *L. casei* 01 as a starter culture resulted in the highest number of cells (9.692 log CFU

mL⁻¹) in the orange juice prepared from concentrate supplemented in this way, which retained its viability even after 6 weeks of storage in a refrigerator (6 °C). In the case of orange juice made from non-concentrate, the *L. reuteri* DSM 17938 strain achieved the highest number of living cells (9.460 log CFU mL⁻¹) during fermentation, while in the case of freshly squeezed orange juice, similarly to the concentrate, it was achieved with the *L. casei* 01 strain (9,477 log CFU mL⁻¹). Although the *L. acidophilus* LA-5 starter culture did not reach the maximum cell number in 24 hours, storing it at room temperature favored the growth of the lactic acid bacteria, so the freshly squeezed, optimized orange juice contained 8 log CFU mL⁻¹ of living cells even after 6 weeks of storage. During the storage experiment, I established that the Weibull model is suitable for estimating the survival of *Lactobacillus* strains in orange juice, which can be used to determine the storage time where a sufficient number of living cells are still present.

It was necessary to add 3 g L⁻¹ of yeast extract to the sour cherry juices, where I diluted the juice with water in a 6:4 (V/V) ratio (6 ml cherry juice, 4 ml water), and then set the pH to 5.80 for the optimal cell proliferation. Despite the fact that all investigated strains reached the desired 9 log cfu mL⁻¹ cell density, a significant difference was observed between the number of viable cells of certain *Lactobacillus* strains. Namely in the Újfehértói fűrtös sour cherry *L. acidophilus* LA-5 resulted in the highest probiotic cell number (9.425 log CFU mL⁻¹), which proved to be significantly higher only against *L. plantarum* 2142 and *L. acidophilus* N2 strains. While in the Petri variety, *L. acidophilus* 150 resulted in the highest cell number (9.598 log CFU mL⁻¹), which proved to be a significant difference compared to the other strains, except *L. acidophilus* LA-5. Although there is no significant difference between the sour cherry varieties in terms of the cell number of the strains, there were already significant differences in the changes in the bioactive compounds during fermentation. Thus, from the point of view of the radical scavenging capacity, for the Újfehértói fűrtös sour cherry, and from the point of view of the antioxidant capacity, the Petri variety is appropriate for fermentation.

During the optimization of the fermentation parameters of the plum, I obtained the result that the higher the pH and the concentration of the added yeast extract, the higher the number of *Lactobacillus* cells. Although the goal is to maximize the number of cells, it is also worth keeping in mind the minimization of additional substances when developing food. Since the living cell number of 9 log CFU mL⁻¹ was already reached when adding 6 g L⁻¹ of yeast extract and adjusting the pH to 6.50, therefore, in addition to dilution (plum juice : water = 5.5 : 4.5 (V/V)), I used this addition and adjustment during strain selection. In the case of the Ageni plum variety, *L. plantarum* 2142 and *L. fermentum* DT41 reached the 9 log CFU mL⁻¹ cell number, but the highest growth rate was achieved by the probiotic *L. casei* Shirota. In the case of the Stanley variety, three strains, *L. plantarum* 2142, *L. acidophilus* N2 and *L. fermentum* DT41, reached the 9 log CFU mL⁻¹ cell number in juice with the set parameters, while the growth rate was outstanding in the case of the probiotic strain *L. reuteri* DSM 17938, which also approximated 9 log CFU mL⁻¹ living cell number. After fermentation, Ageni variety proved to be the right choice in terms of total polyphenol content and antioxidant capacity, because while Stanley plum juice showed a decrease in almost all selected strains, the strains in Ageni typically resulted in an increase in the amount of these bioactive compounds.

I achieved the highest cell number increase in the case of black chokeberry using juice diluted in a ratio of 8 : 2 = chokeberry juice : water (V/V), adding 5.62 g L⁻¹ peptone and adjusting the pH to 4.50. Thus, *L. reuteri* DSM 17938 (8.587 log CFU mL⁻¹), which produces the highest number of cells in the Nero variety, is significantly different from almost all other strains, which is mostly due to the fact that I observed a decrease in the cell number of certain strains. The development of the cell numbers proves that the type of raw material also affects the fermentation, because in Viking chokeberry, all but one of the strains showed an increase of the same order of magnitude, and the highest cell number was measured when *L. fermentum* DT41 (8.876 log CFU mL⁻¹) was used as a starter culture.

Since the addition of 5 g L⁻¹ peptone and setting the pH to 6.00 also resulted in a cell number of nearly 9 log CFU mL⁻¹ during the lactic acid fermentation of quince, therefore, I also used in addition to diluting the ratio of 8 : 2 = quince juice : water (V/V), this addition and setting during the stem selection. The increase or decrease in the number of cells of the strains was very similar in the two types examined, that is, the *Lactobacillus* do not prefer one or the other type. The highest number of living cells during fermentation in the case of Angersi quince was achieved with *L. reuteri* DSM with 17938 strains (8.865 log CFU mL⁻¹), while in the Csokonai variety *L. plantarum* with 2142 strains (8.824 log CFU mL⁻¹).

In contrast to the tested fruits, the raw material does not require nutrient supplementation or parameter adjustment for the proper growth of lactic acid bacteria in tomato juice. Despite the fact that some strains behaved differently in different varieties, in the tomato juice of Mobil (9.251 log CFU mL⁻¹), Uno Rosso (9.514 log CFU mL⁻¹) and Cherrola (9.177 log CFU mL⁻¹) *L. acidophilus* N2 reached the highest cell number. However, the probiotic *L. casei* Shirota was not far behind in cell proliferation either. Comparing the results, it can be seen that overall, the *Lactobacillus* multiply significantly better in Uno Rosso and reach a higher cell number than in Cherrola or Mobil varieties. During the storage experiment, I got the best survival results in Cherrola tomato juice (0.86 – 0.94), in this variety, 85% of the cells were viable after four weeks of storage for each strain.

Certain plant-derived lactic acid bacteria have gradually been used for the fermentation of vegetable and fruit juices, but due to the diversity of raw materials, no single species can be used for the fermentation of all fruits and vegetables. From my results, it can be concluded that the starter culture selection for the given raw material is extremely important, as I measured significant differences between *Lactobacillus* strains even within species – both in terms of reproduction and survival, as well as metabolic products and their effect on the raw material. There was no specific *Lactobacillus* strain that would have grown uniformly better in all of the examined plant raw materials. However, during the fermentation of each raw material, I managed to select at least one *Lactobacillus* strain that reached or approached the desired cell concentration of 9 log CFU mL⁻¹ while creating the necessary conditions for its reproduction. Although, in addition to the proven probiotic strains, I also tested non-probiotic strains with good fermentation properties in terms of fermentation ability, the highest cell number and survival were also obtained in several cases by the probiotic strain. Based on these, it can be stated that with the right selection, a product that can last for several months can be produced,

which contains the recommended number of living probiotic cells. Lactic acid fermentation not only provides an excellent alternative for the natural preservation of vegetables and fruits, but thanks to the technology, the amount of bioactive compounds in the raw material can even be increased, which makes it possible to create a product that contributes to the preservation of health, which can be included in the daily diet, and it is compatible with a vegan diet, and those suffering from a milk protein allergy or lactose intolerance should not give up the health benefits of probiotic foods.

MELLÉKLETEK

M1. Irodalomjegyzék

ABOULOIFA, H., ROKNI, Y., BELLAOUCHI, R., GHABBOUR, N., KARBOUNE, S., BRASCA, M., SALAH, R. B., CHIHIB, N. E., SAALAOUI, E., & ASEHRAOU, A. (2020)a. Characterization of Probiotic Properties of Antifungal *Lactobacillus* Strains Isolated from Traditional Fermenting Green Olives. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12(2), 683-696.

ABOULOIFA, H., ROKNI, Y., BELLAOUCHI, R., HASNAOUI, I., GAAMOUCHE, S., GHABBOUR, N., CHAOUI, J., BRASCA, M., KARBOUNE, S., & SALAH, R.B. (2020)b. Technological properties of potential probiotic *Lactobacillus* strains isolated from traditional fermenting green olive. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 9, 884-889.

AĞÇAM, E., AKYILDIZ, A., & DÜNDAR, B. (2018). Thermal Pasteurization and Microbial Inactivation of Fruit Juices. *Fruit Juices*, 309-339.

ALBERT, I. & MAFART, P. (2005). A modified Weibull model for bacterial inactivation. *International Journal of Food Microbiology*, 100, 197-211.

ALTUNTAS, S., & HAPOGLU, H. (2019). 7 - Kefir-Type Drinks From Whey Author links open overlay panel, *Non-Alcoholic Beverages Volume 6: The Science of Beverages*, 185-226.

ANDRADE, E. A., SANTOS PIRES, A. C. DOS, SOARES, M., JAN, G., & DE CARVALHO, A. F. (2012). Probiotics in Dairy Fermented Products. *Probiotics*. Ed. Rigobelo, E.C., 129-148.

ANTHONY, P., HARISH, B. S., JAMPALA, P., RAMANUJAM, S., & UPPULURI, K. B. (2016). Statistical optimization, purification and applications of xylanase produced from mixed bacteria in a solid liquid fermentation using *Prosopis juliflora*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 8, 213-220.

ARAÚJO, E. A., PIRES, A. C. S., PINTO, M. S., JAN, G., & DE CARVALHO, A. F. (2012). Probiotics in dairy fermented products. *Probiotics*. Ed. Rigobelo, E.C. InTech, Rijeka, Croatia, 129-148.

ÁSVÁNYI-MOLNÁR, N. (2009). Funkcionális hatású tejtermék előállítása spirulina (*Arthrospira platensis*) felhasználásával. Doktori (PhD) Értekezés. Ujhelyi Imre Állattudományi Doktori Iskola, Mosonmagyaróvár, 19-20.

AVONTS, L., UYTVEN, E. V., & VUYST, L. D. (2004). Cell growth and bacteriocin production of probiotic *Lactobacillus* strains in different media. *International Dairy Journal*, 14(11), 947-955.

AXELSSON, L. (1998). Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. *Lactic Acid Bacteria, Microbiology and Functional Aspects*, 2nd Edition (Edited by Seppo Salminen and Atte von Wright). New York, Marcel Dekker, Inc., 1-72.

- AZAD, M. A. K., GAO, J., MA, J., LI, T., TAN, B., HUANG, X., & JIE, Y. (2020). Opportunities of prebiotics for the intestinal health of monogastric animals. *Animal Nutrition*, 6(4), 379-388.
- BAGHER HASHEMI, S. M., & JAFARPOUR, D. (2020). Fermentation of bergamot juice with *Lactobacillus plantarum* strains in pure and mixed fermentations: Chemical composition, antioxidant activity and sensorial properties. *LWT*, 109803.
- BANSAL, G., ANAND, A. & YADAVALLI, V. S. S. (2019). Predicting effective customer lifetime: an application of survival analysis for telecommunication industry. *Communications in Statistics - Theory and Methods*, 49(10), 2305-2320.
- BARÁTH, Á., HALÁSZ, A., NÉMETH, E., & ZALÁN, ZS. (2004). Selection of LAB strains for fermented red beet juice production, *European Food Research Technology*, 218, 184-187.
- BARTA, J., & KÖRMENDY, I. (Szerk.) (2007). Növényi nyersanyagok hőközléses tartósító technológiái. *Mezőgazda Kiadó, Budapest*, 173-174.
- BAYOD, E., WILLERS, E. P., & TORNBERG, E. (2008). Rheological and structural characterization of tomato paste and its influence on the quality of ketchup. *LWT - Food Science and Technology*, 41(7), 1289-1300.
- BEHERA, S. S., PANDA, S. K., & RAY, R. C. (2021). Biogenic amines in fermented vegetables: food safety issues. In: Ray, R. C. (Ed.): *Microbial Biotechnology in Food and Health*. Academic publisher (Elsevier), Oxford, 165-195.
- BEHERA, S. S., EL SHEIKHA, A. F., HAMMAMI, R., & KUMAR, A. (2020). Traditionally fermented pickles: How the microbial diversity associated with their nutritional and health benefits? *Journal of Functional Foods*, 70, 103971.
- BÉKEFI, ZS. (2013). Major aspects and results of sweet cherry and sour cherry breeding. *Modern Horticulture*. Corvinus University of Budapest, Faculty of Horticultural Science, 53-70.
- BENVENUTI, S., PELLATI, F., MELEGARI, M., & BERTELLI, D. (2006). Polyphenols, Anthocyanins, Ascorbic Acid, and Radical Scavenging Activity of Rubus, Ribes, and Aronia. *Journal of Food Science*, 69(3), FCT164–FCT169.
- BENZIE, I. F. F., & STRAIN, J. J. (1996): The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.
- BLANDO, F., GERARDI, C., & NICOLETTI, I. (2004). Sour Cherry (*Prunus cerasus L*) Anthocyanins as Ingredients for Functional Foods. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 5: 253-258.
- BLANDO, F., & OOMAH, B.D. (2019). Sweet and sour cherries: Origin, distribution, nutritional composition, and health benefit. *Trends in Food Science & Technology* 86: 517-529.

BLEVE, G., TUFARIELLO, M., DURANTE, M., PERBELLINI, E., RAMIRES, F. A., GRIECO, F., CAPPELLO, M. S., DE DOMENICO, S., MITA, G., TASIOULA-MARGARI, M., & LOGRIECO, A. F. (2014). Physico-chemical and microbiological characterization of spontaneous fermentation of Cellina di Nard² and Leccino table olives. *Frontiers in Microbiology*, 5, 1-19.

BOTH, E. (2018). Probiotikus tulajdonsággal rendelkező tejsavbaktériumok antibakteriális hatása. *Műszaki szemle*, 72, 3-7.

BOTH, E., BODOR, ZS., LÁNYI, SZ., & ÁBRAHÁM, B. (2012). Effect of microencapsulation on viability and survival in simulated gut conditions of probiotic bacteria. *University Politehnica of Bucharest, Scientific Bulletin Series B: Chemistry and Materials Science*, 74/1, 27-32.

BOTH, E., GYÖRGY, É., ÁBRAHÁM, B., & LÁNYI, SZ. (2011). Beneficial effects of probiotic microorganisms. A review. *Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*, 4, 44-58.

BOURDICHON, F., CASAREGOLA, S., FARROKH, C., FRISVAD, J. C., GERDS, M. L., HAMMES, W. P., HARNETT, J., HUYS, G., LAULUND, S., OUWEHAND, A., POWELL, I. B., PRAJAPATI, J. B., SETO, Y., SCHURE, E. T., BOVEN, A. V., VANKERCKHOVEN, V., ZGODA, A., TUIJTELAARS, A., & HANSEN, E. B. (2012). Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use. *International Journal of Food Microbiology*, 154(3), 87-97.

BOX, G. E. P., & HUNTER, J. S. (1957). Multifactor experimental designs for exploring response surfaces. *Annals of Mathematical Statistics*, 28, 195.

BOX, G. E. P., & WILSON, K. B. (1951). On the experimental attainment of optimum conditions. *Journal of Royal Statistical Society B* 13:1-38.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., & BERSET, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT — Food Science and Technology*, 28, 25-30.

CABRERA-BAÑEGIL, M., LAVADO RODAS, N., HENAR PRIETO LOSADA, M., BLANCO CIPOLLONE, F., JOSÉ MOÑINO ESPINO, M., MUÑOZ DE LA PEÑA, A., & DURÁN-MERÁS, I. (2020). Evolution of polyphenols content in plum fruits (*Prunus salicina*) with harvesting time by second-order excitation-emission fluorescence multivariate calibration. *Microchemical Journal*, 105299.

CAPLICE, E., FITZGERALD, G. F. (1999). Food Fermentation: Role of Microorganisms in Food Production and Preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50, 131-149.

CÁSEDAS, G., LES, F., GÓMEZ-SERRANILLOS, M. P., SMITH, C., & LÓPEZ, V. (2016). Bioactive and functional properties of sour cherry juice (*Prunus cerasus*). *Food & Function* 7(11): 4675-4682.

CATALDO, P. G., VILLEGAS, J. M., DE GIORI, G. S., SAAVEDRA, L., & HEBERT, E. M. (2020). Enhancement of γ -aminobutyric acid (GABA) production by *Lactobacillus brevis* CRL 2013 based on carbohydrate fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 108792.

- CHAMPAGNE, C. P., & GARDNER, N. J. (2008). Effect of storage in a fruit drink on subsequent survival of probiotic lactobacilli to gastro-intestinal stresses. *Food Research International*, 41(5), 539-543.
- CHAN, M. Z. A., TOH, M., & LIU, S.-Q. (2020). Growth, survival, and metabolic activities of probiotic *Lactobacillus* spp. in fermented coffee brews supplemented with glucose and inactivated yeast derivatives. *Food Research International*, 137, 109746.
- CHEN, H., & HOOVER, D. G. (2003). Bacteriocins and their Food Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2(3), 82-100.
- CHEN, Y.-S., LIOU, M. -S., JI, S. -H., YU, C. -R., PAN, S. -F., & YANAGIDA, F. (2013). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from Yan-tsai-shin (fermented broccoli stems), a traditional fermented food in Taiwan. *Journal of Applied Microbiology*, 115(1), 125-132.
- CHEN, M., YE, X., SHEN, D., & MA, C. (2019). Modulatory Effects of Gut Microbiota on Constipation: The Commercial Beverage Yakult Shapes Stool Consistency. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 25(3), 475-477.
- CHU, Q. F., ZHANG, D. C., & SUN, S. (2009). Anti-fatigue effect of *Bifidobacterium*-fermented mixed fruit and vegetable juice in mice. *Chin J Microecol*, 21(2), 106-8,12.
- CIRLINI, M., RICCI, A., GALAVERNA, G., & LAZZI, C. (2019). Application of lactic acid fermentation to elderberry juice: Changes in acidic and glucidic fractions. *LWT - Food Science and Technology*: 108779.
- COEURET, V., DUBERNET, S., BERNARDEAU, M., GUEGUEN, M., & VERNOUX, J. P. (2003). Article. *Le Lait*, 83(4), 269-306.
- CONSTANS, J., BENNETAU-PELISSERO, C., MARTIN, J, ROCK, E., MAZUR, A., BEDEL, A., MORAND, C., & BERARD, A. M. (2015). Marked antioxidant effect of orange juice intake and its phytonutrients in a preliminary randomized cross-over trial on mild hypercholesterolemic men, *Clinical Nutrition* 34: 1093-1100.
- CORRADINI, M. G. & PELEG, M. (2004). Demonstration of the Applicability of the Weibull–Log-Logistic Survival Model to the Isothermal and Nonisothermal Inactivation of *Escherichia coli* K-12 MG1655. *Journal of Food Protection*, 67, 2617-2621.
- CUI, F., LI, Y., & WAN, C. (2011). Lactic acid production from corn stover using mixed cultures of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus brevis*. *Bioresource Technology*, 102(2), 1831-1836.
- DANESHI, M., EHSANI, M.R., RAZAVI, S.H., & LABBAFI, M. (2013). Effect of refrigerated storage on the probiotic survival and sensory properties of milk/carrot juice mix drink. *Electronic Journal of Biotechnology*, 16:5.
- DASKALOVA, E., DELCHEV, S., TOPOLOV, M., DIMITROVA, S., UZUNOVA, Y., VALCHEVA-KUZMANOVA, S., KRATCHANOVA, M., VLADIMIROVA-KITOVA, L., &

- DENEV, P. (2019). *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot fruit juice reveals neuroprotective effect and improves cognitive and locomotor functions of aged rats. *Food and Chemical Toxicology*, 110674.
- DE ANCOS, B., RODRIGO, M. J., SÁNCHEZ-MORENO, C., PILAR CANO, M., & ZACARÍAS, L. (2020). Effect of high-pressure processing applied as pretreatment on carotenoids, flavonoids and vitamin C in juice of the sweet oranges “Navel” and the red-fleshed “Cara Cara.” *Food Research International*, 109105.
- DE BELLIS, P., VALERIO, F., SISTO, A., LONIGRO, S. L., & LAVERMICOCCA, P. (2010). Probiotic table olives: Microbial populations adhering on olive surface in fermentation sets inoculated with the probiotic strain *Lactobacillus paracasei* IMPC2.1 in an industrial plant. *International Journal of Food Microbiology*, 140(1), 6-13.
- DE PAIVA, A., GONÇALVES, D., FERREIRA, P., BALDWIN, E., & CESAR, T. (2019). Postprandial effect of fresh and processed orange juice on the glucose metabolism, antioxidant activity and prospective food intake. *Journal of Functional Foods*, 52, 302-309.
- DEÁK, T. (2005): A mikrobavilág molekuláris szemlélete. *Alkoholmentes italok*, 2005/2, 34-39.
- DEÁK, T. (2006). *Élelmiszer-mikrobiológia*. Budapest, Mezőgazda Kiadó. 382.
- DENEV, P., ČÍŽ, M., KRATCHANOVA, M., & BLAZHEVA, D. (2019). Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) polyphenols reveal different antioxidant, antimicrobial and neutrophil-modulating activities. *Food Chemistry*, 284, 108-117.
- DENEV, P. N., KRATCHANOV, C. G., CIZ, M., LOJEK, A., & KRATCHANOVA, M. G. (2012). Bioavailability and Antioxidant Activity of Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Polyphenols: *in vitro* and *in vivo* Evidences and Possible Mechanisms of Action: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(5), 471-489.
- DHAKAL, R., BAJPAI, V. K., & BAEK, K.-H. (2012). Production of GABA (γ - aminobutyric acid) by microorganisms: a review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(4), 1230-1241.
- DI CAGNO, R., MINERVINI, G., RIZZELLO, C. G., DE ANGELIS, M., & GOBBETTI, M. (2011a). Effect of lactic acid fermentation on antioxidant, texture, color and sensory properties of red and green smoothies. *Food Microbiology*, 28(5), 1062-1071.
- DI CAGNO, R., SURICO, R.F., MINERVINI, G., RIZZELLO, C.G., LOVINO, R., SERVILI, M., TATICCHI, A., URBANI, S., & GOBETTI, M. (2011b). Exploitation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) puree added of stem infusion through fermentation by selected autochthonous lactic acid bacteria. *Food Microbiology* 28: 900-909.
- DI CAGNO, R., SURICO, R. F., SIRAGUSA, S., DE ANGELIS, M., PARADISO, A., MINERVINI, F., DE GARA, L., & GOBBETTI, M. (2008). Selection and use of autochthonous mixed starter for lactic acid fermentation of carrots, French beans or marrows. *International Journal of Food Microbiology*, 127(3), 220-228.

- DIMITROVSKI, D., VELICKOVA, E., DIMITROVSKA, M., LANGERHOLC, T., & WINKELHAUSEN, E. (2015a). Synbiotic functional drink from Jerusalem artichoke juice fermented by probiotic *Lactobacillus plantarum* PCS26. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 766-774.
- DIMITROVSKI, D., VELICKOVA, E., LANGERHOLC, T., & WINKELHAUSEN, E. (2015b). Apple juice as a medium for fermentation by the probiotic *Lactobacillus plantarum* PCS 26 strain. *Annals of Microbiology*, 65(4), 2161-2170.
- DIN GANAIE, M. U., BEHL, T., NIJHAWAN, P., SACHDEVA, M., & KHAN, N. (2020). Investigation of anti-depressant effect of aqueous and ethanolic extract of *Cydonia oblonga* in rats. *Obesity Medicine*, 100202.
- DOVE, E. R., HODGSON, J. M., PUDDEY, I. B., BEILIN, L. J., LEE, Y. P., & MORI, T. A. (2009). Skim milk compared with a fruit drink acutely reduces appetite and energy intake in overweight men and women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90(1), 70-75.
- DUQUE, A. L. R. F., MONTEIRO, M., ADORNO, M. A. T., SAKAMOTO, I. K., & SIVIERI, K. (2016). An exploratory study on the influence orange juice on gut microbiota using a dynamic colonic model. *Food Research International*, 84: 160-169.
- DWIVEDI, S., SAHRAWAT, K., PUPPALA, N., & ORTIZ, R. (2014). Plant prebiotics and human health: Biotechnology to breed prebiotic-rich nutritious food crops. *Electronic Journal of Biotechnology*, 17(5), 238-245.
- EPHREM, E., NAJJAR, A., CHARCOSSET, C., & GREIGE-GERGES, H. (2019). Use of free and encapsulated nerolidol to inhibit the survival of *Lactobacillus fermentum* in fresh orange juice. *Food and Chemical Toxicology*, 133, 110795.
- ESLAMI, M., YOUSEFI, B., KOKHAEI, P., MOGHADAS, A. J., MOGHADAM, B. S., ARABKARI, V., & NIAZI, Z. (2019). Are probiotics useful for therapy of *Helicobacter pylori* diseases?, *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 64, 99-108.
- EYE, A., DESHON, R. P., & BOGAT, G. A. (2008). Fractional factorial designs in the analysis of categorical data. <http://interstat.statjournals.net/YEAR/2008/articles/0804003.pdf>
- FAOSTAT (2017). <http://www.fao.org/>
- FAOSTAT (2019). http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/commodities_by_country
- FAO/WHO (2002). Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Canada, 2002. April, May. Guidelines for evaluation of probiotics in food.
- FERNANDES PEREIRA, A. L., & RODRIGUES, S. (2018). Turning Fruit Juice Into Probiotic Beverages. *Fruit Juices*, 279-287.
- FINSZTER, F., ARADI, P., CZMERK, A., NÉMETH, Z., WENZEL-GERÓFY, K., & HALMAI, A. (2014). Járműipari tesztelés és jóváhagyás, *Budapesti Műszaki Egyetem, Mechatronika, Optika és Gépészeti Informatika Tanszék*, 135.

- FLEMING, H. P., McFEETERS, R. F., & THOMPSON, R. L. (1987). Effects of Sodium Chloride Concentration on Firmness Retention of Cucumbers Fermented and Stored with Calcium Chloride. *Journal of Food Science*, 52(3), 653-657.
- FLORES, M., PEREA-SANZ, L., & BELLOCH, C. (2021). Nitrite reduction in fermented meat products and its impact on aroma. *Advances in Food and Nutrition Research*, 95, 131-181.
- FOODDATA CENTRAL (2019). FoodData Central U.S. Department of Agriculture. Plum, raw. Published April 1, 2019. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169949/nutrients>
- FONTELES, T. V., COSTA, M. G., DE JESUS, A. L. T., & RODRIGUES, S. (2011). Optimization of the fermentation of cantaloupe juice by *Lactobacillus casei* NRRL B-442. *Food and Bioprocess Technology* 5: 2819-2826.
- FRANCK, A. (2002). Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87(S2), S287.
- FRANKS, A. H., HARMSSEN, H. J. M., RAANGS, G. C., JANSEN, G. J., SCHUT, F., & WELLING, G. W. (1998). Variations of bacterial populations in human feces measured by fluorescent in situ hybridization with group-specific 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (9) 3339-3345.
- FULLER, R. (1989), Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66 (5) 365-378.
- GANDOMI, H., ABBASZADEH, S., MISAGHI, A., BOKAIE, S., & NOORI, N. (2016). Effect of chitosan-alginate encapsulation with inulin on survival of *Lactobacillus rhamnosus* GG during apple juice storage and under simulated gastrointestinal conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 69, 365-371.
- GARCÍA-BURGOS, M., MORENO-FERNÁNDEZ, J., ALFÉREZ, M. J. M., DÍAZ-CASTRO, J., & LÓPEZ-ALIAGA, I. (2020). New perspectives in fermented dairy products and their health relevance. *Journal of Functional Foods*, 72, 104059.
- GEERAERD, A. H., VALDRAMIDIS, V. P., & VAN IMPE, J. F. (2005). GInaFiT, a freeware tool to assess non-log-linear microbial survivor curves. *International Journal of Food Microbiology*, 102, 95-105.
- GERARDI, C., TRISTEZZA, M., GIORDANO, L., RAMPINO, P., PERROTTA, C., BARUZZI, F., CAPOZZI, V., MITA, G., & GRIECO, F. (2019). Exploitation of *Prunus mahaleb* fruit by fermentation with selected strains of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiology*, 103262.
- GHNIMI, S., & GUIZANI, N. (2018). Vegetable Fermentation and Pickling. *Handbook of Vegetables and Vegetable Processing*, 407-427.

- GIAMPIERI, F., ALVAREZ-SUAREZ, J. M., & BATTINO, M. (2014). Strawberry and Human Health: Effects beyond Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 3867-3876. doi: 10.1021/jf405455n.
- GIAMPIERI, F., FORBES-HERNANDEZ, T. Y., GASPARRINI, M., ALVAREZ-SUAREZ, J. M., AFRIN, S., BOMPADRE, S., QUILES, J. L., MEZZETTI, B., & BATTINO, M. (2015). Strawberry as a health promoter: an evidence based review. *Food and Function*, 6, 1386–1398. doi: 10.1039/c5fo00147a.
- GIBSON, G. R., & ROBERFROID, M. B. (1995). Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 125(6), 1401-1412.
- GIRAFFA, G., CHANISHVILI, N., & WIDYASTUTI, Y. (2010). Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology. *Research in Microbiology* 161, 480-487.
- GONZÁLEZ-GARCÍA, E., MARINA, M. L., GARCÍA, M. C., RIGHETTI, P. G., & FASOLI, E. (2016). Identification of plum and peach seed proteins by nLC-MS/MS via combinatorial peptide ligand libraries. *Journal of Proteomics*, 148, 105-112.
- GONZÁLEZ-REGUEIRO, J. A., MORENO-CASTAÑEDA, L., URIBE, M., & CHÁVEZ-TAPIA, N. C. (2017). The Role of Bile Acids in Glucose Metabolism and Their Relation with Diabetes. *Annals of Hepatology*, 16(0), 16-21.
- GRAFE, C., & SCHUSTER, M. (2014). Physicochemical characterization of fruit quality traits in a German sour cherry collection. *Scientia Horticulturae*, 180, 24-31.
- GRIÑÁN, I., GALINDO, A., RODRÍGUEZ, P., MORALES, D., CORELL, M., CENTENO, A., COLLADO-GONZÁLEZ, I., TORRECILLAS, A., CARBONELL-BARRACHINA, A. A., & HERNÁNDEZ, F. (2019). Volatile composition and sensory and quality attributes of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) fruits as affected by water stress. *Scientia Horticulturae*, 244, 68-74.
- GUAN, Q., XIONG, T., & XIE, M. (2021). Influence of probiotic fermented fruit and vegetables on human health and the related industrial development trend. *Engineering*, 7(2), 212-218.
- GUAN, X. R., ZHANG, D. C., LI, J. L., & XI, Q. (2010). Effect of *Bifidobacterium* fermented mixed fruit and vegetable juice on immunological function of mice. *Chin J Microecol*, 22(2), 110-3.
- GUIZANI, N. (2011). Vegetable Fermentation and Pickling. In N. H. Sinha, *Handbook of Vegetables & Vegetable Processing*, 351-368. Ames, USA: Blackwell Publishing Ltd.
- HALÁSZ, A., BARÁTH, Á., & HOLZAPFEL, W. H. (1999). The influence of starter culture selection on sauerkraut fermentation, *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung A* 208, 434-438.
- HASSAN, S. A., METWALLI, N. E., IBRAHIM, G. G., & ALY, M. A. (2017). Comparison of the efficacy of mouth rinses *camellia sinensis* extract, guava leaves extract and sodium

fluoride solution, on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* in children (an *in vitro* study). Al-Azhar Journal of Dental Science, 20(4), 375-382.

HE, T., PRIEBE, M. G., ZHONG, Y., HUANG, C., HARMSSEN, H. J. M., RAANGS, G. C., ANTOINE, J.-M., WELLING, G. W., & VONK, R. J. (2007). Effects of yogurt and bifidobacteria supplementation on the colonic microbiota in lactose-intolerant subjects. Journal of Applied Microbiology, 103, 595-604.

HEENEY, D. D., GAREAU, M. G., & MARCO, M. L. (2018). Intestinal *Lactobacillus* in health and disease, a driver or just along for the ride? Current Opinion in Biotechnology, 49, 140-147.

HEGYI, F. (2014). Laktobacillusok vizsgálata továbbfejlesztett kolorimetriás módszerrel. Doktori (PhD) Értekezés. Budapesti Corvinus Egyetem, Budapest, 44-49.

HELLER, K. J. (2001). Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. American Journal of Clinical Nutrition, 73, 374-379.

HICKEY, R. M. (2012). The role of oligosaccharides from human milk and other sources in prevention of pathogen adhesion. International Dairy Journal, 22(2), 141-146.

HILL, C., GUARNER, F., REID, G., GIBSON, G. R., MERENSTEIN, D. J., POT, B., MORELLI, L., CANANI, R. B., FLINT, H. J., SALMINEN, S., CALDER, P. C., & SANDERS, M. E. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 11(8), 506-514.

HOLZAPFEL, W. H., HABERER, P., GEISEN, R., BJÖRKROTH, J., & SCHILLINGER, U. (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. The American Journal of Clinical Nutrition, 73(2), 365s-373s.

JAKOBEK, L., ŠERUGA, M. (2012) Influence of Anthocyanins, Flavonols and Phenolic Acids on the Antiradical Activity of Berries and Small Fruits. International Journal of Food Properties, 15(1): 122-133.

JAKOBEK, L., ŠERUGA, M., & KRIVAK, P. (2011). The influence of interactions among phenolic compounds on the antiradical activity of chokeberries (*Aronia melanocarpa*). International Journal of Food Sciences and Nutrition, 62(4), 345-352.

JAKOBEK, L., DRENJANČEVIĆ, M., JUKIĆ, V., & ŠERUGA, M. (2012). Phenolic acids, flavonols, anthocyanins and antiradical activity of “Nero”, “Viking”, “Galicianka” and wild chokeberries. Scientia Horticulturae, 147, 56-63.

JUNG, Y. K., JOO, K. S., RHO, S. J., & KIM, Y. R. (2020). pH-dependent antioxidant stability of black rice anthocyanin complexed with cycloamylose. LWT, 109474.

JUVEN, B. J., & WEISSLOWICZ, H. (1981). Chemical Changes in Tomato Juices Caused by Lactic Acid Bacteria. Journal of Food Science, 46(5), 1543-1545.

- KANG, M.-S., KANG, Y.-R., LEE, Y., & CHANG, Y. H. (2018). Effect of mixed culture inoculation on chemical and sensory properties of aronia (*Aronia melanocarpa*). *LWT*, 98, 418-423.
- KARABIYIKLI, Ş., DEĞİRMENCI, H., & KARAPINAR, M. (2014). Inhibitory effect of sour orange (*Citrus aurantium*) juice on *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes*. *LWT - Food Science and Technology*, 55(2), 421-425.
- KHAN, I., & KANG, S. C. (2016). Probiotic potential of nutritionally improved *Lactobacillus plantarum* DGK-17 isolated from Kimchi - A traditional Korean fermented food. *Food Control*, 60, 88-94.
- KHANDPUR, P., & GOGATE, P. R. (2015). Understanding the effect of novel approaches based on ultrasound on sensory profile of orange juice, *Ultrasonics Sonochemistry*, 27: 87-95.
- KIM, D. O., JEONG, S. W., & LEE, C. Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *FoodChem*, 81, 321-326.
- KIM, I., MOON, J. K., HUR, S. J., & LEE, J. (2020). Structural Changes in Mulberry (*Morus Microphylla*. Buckl) and Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) Anthocyanins during Simulated In Vitro Human Digestion. *Food Chemistry*, 126449.
- KLAENHAMMER, T.R. (1988) Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochemie* 70, 337-349.
- KLEWICKA, E., ZDŃCZYK, Z., JUŚKIEWICZ, J., & KLEWICKI, R. (2015). Effects of lactofermented beetroot juice alone or with N-nitroso-N-methylurea on selected metabolic parameters, composition of the microbiota adhering to the gut epithelium and antioxidant status of rats *Nutrients*, 7(7), 5905-5915.
- KINOSHITA, H., IMOTO, S., SUDA, Y., ISHIDA, M., WATANABE, M., KAWAI, Y., KITAZAWA, H., MIURA, K., HORII, A., & SAITO, T. (2012). Proposal of screening method for intestinal mucus adhesive lactobacilli using the enzymatic activity of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH). *Animal Science Journal*, 84(2), 150-158.
- KRASAEKOOPT, W., & WATCHARAPOKA, S. (2014). Effect of addition of inulin and galactooligosaccharide on the survival of microencapsulated probiotics in alginate beads coated with chitosan in simulated digestive system, yogurt and fruit juice. *LWT - Food Science and Technology*, 57(2), 761-766.
- KUKKONEN, K., SAVILAHTI, E., HAAHTELA, T., JUNTUNEN-BACKMAN, K., KORPELA, R., POUSSA, T., TUURE, T., & KUITUNEN, M. (2007). Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 119(1), 192-198.
- KUMAR, S., VERMA, A., & SHADAP, A. (2019). Yield Improvement in Tomato through Certain Micronutrients in Central Plain Zone (Pb-3) of Punjab, India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(5), 1451-1456.

- KUSHARYATI, D. F., HENDRATI, P. M., & SUKANTO (2011). Diversity of local probiotic lactobacilli in tomato juice and its potential as functional food. In Proceeding of The 3rd International Conference of Indonesian Society for Lactic Acid, 23.
- LACOMBE, A., MCGIVNEY, C., TADEPALLI, S., SUN, X., & WU, V. C. H. (2013). The effect of American cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) constituents on the growth inhibition, membrane integrity, and injury of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in comparison to *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Microbiology* 34(2): 352-359.
- LACROIX, C., & YILDIRIM, S. (2007). Fermentation technologies for the production of probiotics with high viability and functionality. *Current Opinion in Biotechnology*, 18(2), 176-183.
- LAI, W., CAI, R., YANG, K., YUE, T., GAO, Z., YUAN, Y., & WANG, Z. (2022). Detoxification of patulin by *Lactobacillus pentosus* DSM 20314 during apple juice fermentation. *Food Control*, 131, 108446.
- LAVERMICOCCA, P., DEKKER, M., RUSSO, F., VALERIO, F., DI VENERE, D., & SISTO, A. (2016) *Lactobacillus paracasei*-Enriched Vegetables Containing Health Promoting Molecules. In: Watson, R. R., Preedy, V. R. (Eds.): Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics. Academic Press. 361-370.
- LEAL-SÁNCHEZ, M. V., RUIZ-BARBA, J. L., SÁNCHEZ, A. H., REJANO, L., JIMÉNEZ-DÍAZ, R., & GARRIDO, A. (2003). Fermentation profile and optimization of green olive fermentation using *Lactobacillus plantarum* LPCO10 as a starter culture, *Food Microbiology*, 20, 421-430.
- LEE, M. E., JANG, J. Y., LEE, J. H., PARK, H. W., CHOI, H. J., & KIM, T. W. (2015). Starter cultures for kimchi fermentation. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 25, 559-568.
- LEE, H., YOON, H., JI, Y., KIM, H., PARK, H., LEE, J., SHIN, H., & HOLZAPFEL, W. (2011). Functional properties of *Lactobacillus* strains isolated from kimchi. *International Journal of Food Microbiology*, 145(1), 155-161.
- LERMA-GARCÍA, M. J., D'AMATO, A., SIMÓ-ALFONSO, E. F., RIGHETTI, P.G., & FASOLI, E. (2016). Orange proteomic fingerprinting: From fruit to commercial juices. *Food Chemistry*. 196: 739-749.
- LEROY, F., & DE VUYST, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry, *Trends in Food Science & Technology* 15, 67-78.
- LI, G. Q., TU, Y. H., DUAN, L. H., ZHANG, J., HUANG, L., WU, W. S. & LV, Z. S. (2020). Survival Analysis of Logistics Service Providers: An Empirical Study of Chengdu, Area in China. *Open Journal of Statistics*, 10, 915-935.
- LIEPIŅA, I., NIKOLAJEVA, V., & JĀKOBSONE, I. (2013). Antimicrobial activity of extracts from fruits of *Aronia melanocarpa* and *Sorbus aucuparia*. *Environmental and Experimental Biology*, 11: 195-199.

- LIEW, S. L., ARIFF, A. B., RAHA, A. R., & HO, Y. W. (2005). Optimization of medium composition for the production of a probiotic microorganism, *Lactobacillus rhamnosus*, using re-sponse surface methodology. *International Journal of Food Microbiology*, 102, 137-142.
- LIU, S. (2003). Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 83(2), 115-131.
- LIU, R-S., & TANG, Y-J. (2010). Tuber melanosporum fermentation medium optimization by Plackett–Burman design coupled with Draper–Lin small composite design and desirability function. *Bioresource Technology*, 10:3139-3146.
- LIU, Y., CHENG, H., LIU, H., MA, R., MA, J., & FANG, H. (2019). Fermentation by Multiple Bacterial Strains Improves the Production of Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Goji Juice. *Molecules*, 24(19): 3519.
- LYE, H. S., BALAKRISHNAN, K., THIAGARAJAH, K., MOHD ISMAIL, N. I., & OOI, S. Y. (2016). Beneficial Properties of Probiotics. *Tropical Life Sciences Research*, 27(2), 73-90.
- LYSTAD, R.P. & BROWN, B.T. (2018) “Death is certain, the time is not”: mortality and survival in Game of Thrones. *Injury Epidemiology*, 5:44.
- MADEJSKA, A., MICHALSKI, M., PAWUL-GRUBA, M., & OSEK, J. (2018). Histamine Content in Rennet Ripening Cheeses During Storage at Different Temperatures and Times. *Journal of Veterinary Research*, 62(1): 65-69.
- MAFART, P., COUVERT, O., GAILLARD, S., & LEGUÉRINEL, I. (2002) On calculating sterility in thermal preservation methods: application of the Weibull frequency distribution model. *International Journal of Food Microbiology*, 72, 107-113.
- MAGYAR ÉLELMISZERKÖNYV, Hivatalos Élelmiszervizsgálati Módszergyűjtemény (Codex Alimentarius Hungaricus) 3-1-91/180 számű előírás (2003). A nyers- és a hőkezelt tej vizsgálati módszerei, 53.
- MANTZOURANI, I., TERPOU, A., BEKATOROU, A., MALLOUCHOS, A., ALEXOPOULOS, A., KIMBARIS, A., BEZIRTZOGLOU, E., KOUTINAS A. A., & PLESSAS, S. (2019). Functional pomegranate beverage production by fermentation with a novel synbiotic *L. paracasei* biocatalyst. *Food Chemistry*, 125658.
- MARAZZA, J. A., GARRO, M. S., & DE GIORI, G. S. (2009). Aglycone production by *Lactobacillus rhamnosus* CRL981 during soymilk fermentation. *Food Microbiology* 26: 333-339.
- MARCOBAL, A., DE LAS RIVAS, B., LANDETE, J. M., TABERA, L., & MUÑOZ, R. (2012). Tyramine and Phenylethylamine Biosynthesis by Food Bacteria. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(5), 448-467.

- MARKKINEN, N., LAAKSONEN, O., NAHKU, R., KULDJÄRV, R., & YANG, B. (2019). Impact of lactic acid fermentation on acids, sugars, and phenolic compounds in black chokeberry and sea buckthorn juices. *Food Chemistry*, 286, 204-215.
- MARSHALL, V. M. (2008). Prebiotics: Development and Application. In Gibson, G. R., Rastall, R. A. (Eds): *International Journal of Dairy Technology*, 61(3), 310-311.
- MARTEAU, P. R., VRESE, M. DE, CELLIER, C. J., & SCHREZENMEIR, J. (2001). Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 430s-436s.
- MASTELLO, R. B., CAPOBIANGO, M., CHIN, S-T., MONTEIRO, M., & MARRIOTT, P.J. (2015). Identification of odour-active compounds of pasteurised orange juice using multidimensional gas chromatography techniques. *Food Research International*, 75: 281-288.
- MATTILA, P., HELLSTRÖM, J., & TÖRRÖNEN, R. (2006) Phenolic Acids in Berries, Fruits, and Beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(19): 7193-7199.
- MENG, L., ZHU, J., MA, Y., SUN, X., LI, D., LI, L., BAI, H., XIN, G., & MENG, X. (2019). Composition and antioxidant activity of anthocyanins from *Aronia melanocarpa* cultivated in Haicheng, Liaoning, China. *Food Bioscience*, 100413.
- MERCENIER, A., PAVAN, S., & POT, B. (2003). Probiotics as Biotherapeutic Agents: Present Knowledge and Future Prospects. *Current Pharmaceutical Design*, 9(2), 175-191.
- MILES, A. A., MISRA, S. S., & IRWIN, J. O. (1938). The estimation of the bactericidal power of the blood. *The Journal of hygiene* 38(6): 732-749.
- MOREIRA, R. M., MARTINS, M. L., LEITE JÚNIOR, B. R. DE C., MARTINS, E. M. F., RAMOS, A. M., CRISTIANINI, M., CAMPOS A. N. DA R., STRINGHETA, P. C., SILVA, V. R. O., CANUTO, J.W., DE OLIVEIRA, D. C., PEREIRA, D. C. DE S. (2017). Development of a juçara and Ubá mango juice mixture with added *Lactobacillus rhamnosus* GG processed by high pressure. *LWT*, 77, 259-268.
- MOUSAVI, Z. E., MOUSAVI, S. M., RAZAVI, S. H., EMAM-DJOMEH, Z., & KIANI, H. (2010). Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(1), 123-128.
- MUHIALDIN, B. J., KADUM, H., & MEOR HUSSIN, A. S. (2020a). Metabolomics profiling of fermented cantaloupe juice and the potential application to extend the shelf life of fresh cantaloupe juice for six months at 8 °C. *Food Control*, 107555.
- MUHIALDIN, B. J., KADUM, H., ZAREI, M., & HUSSIN, A. S. M. (2020b). Effects of metabolite changes during lacto-fermentation on the biological activity and consumer acceptability for dragon fruit juice. *LWT - Food Science and Technology* 121: 108992.
- MUSMADE, A. M., & DESAI, U. T. (1998). Cucumber and Melon. In D. K. Salunkhe, & S. S. Kadam, *Handbook of Vegetable Science and Technology: Production, Composition, Storage, and Processing*, Ed. 1, 245-272. Boca Raton: CRC Press.

- NAGPAL, R., KUMAR, A., & KUMAR, M. (2012). Fortification and fermentation of fruit juices with probiotic lactobacilli. *Annals of Microbiology*, 62, 1573-1578.
- NAGY, L. & BALOGH, P. (2013). *Ökonometria /Elméleti jegyzet/*. Debreceni Egyetem Gazdálkodástudományok Centruma, https://regi.tankonyvtar.hu/en/tartalom/tamop412A/2011-0029_de_okonometria_elmelet/ch12s02.html
- NEMATOLLAHI, A., SOHRABVANDI, S., MORTAZAVIAN, A. M., & 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.
- NGNITCHO, P. -F. K., TANGO, C. N., KHAN, I., DALIRI, E. B.- M., CHELLIAN, R., & OH, D. H. (2018) The applicability of Weibull model for the kinetics inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7 on soybean sprouts submitted to chemical sanitizers in combination with ultrasound at mild temperatures, *LWT - Food Science and Technology*, 91, 573-579.
- NGUYEN, B. T., BUJNA, E., FEKETE, N., TRAN, A. T. M., REZESSY-SZABO, J. M., PRASAD, R., & NGUYEN, Q. D. (2019). Probiotic Beverage From Pineapple Juice Fermented With *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* Strains. *Frontiers in Nutrition*, 6.
- NUALKAEKUL, S., & CHARALAMPOPOULOS, D. (2011). Survival of *Lactobacillus plantarum* in model solutions and fruit juices. *International Journal of Food Microbiology*, 146(2), 111-117.
- OBAE, S. G., BRAND, M. H., CONNOLLY, B. A., BEASLEY, R. R., & LANCE, S. L. (2017). Microsatellite Markers for *Aronia melanocarpa* (Black Chokeberry) and Their Transferability to Other *Aronia* Species. *HortScience*, 52(1), 20-23.
- OHNO-MACHADO, L. (2001). Modeling Medical Prognosis: Survival Analysis Technique. *Journal of Biomedical Informatics*, 34, 428-439.
- OJHA, K. S., & TIWARI, B. K. (2016). Novel Food Fermentation Technologies. *Food Engineering Series*, 1-5.
- OLIVARES, A., SOTO, C., CABALLERO, E., & ALTAMIRANO, C. (2019). Survival of microencapsulated *Lactobacillus casei* (prepared by vibration technology) in fruit juice during cold storage. *Electronic Journal of Biotechnology* 42, 42-48.
- OLIVEIRA, A. P., PEREIRA, J. A., ANDRADE, P. B., VALENTÃO, P., SEABRA, R. M., & SILVA, B. M. (2007). Phenolic profile of *Cydonia oblonga* Miller leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 7926-7930.
- OTLES, S., & OZYURT, V. H. (2019). Probiotic and Prebiotic Beverages. In: Grumezescu, A. M., Holban, A. M. (Eds.): *Functional and Medicinal Beverages*. Academic Press, 447-458.
- OUWEHAND, A. C., KIRJAVAINEN, P. V., SHORTT, C., & SALMINEN, S. (1999). Probiotics: mechanisms and established effects. *International Dairy Journal*, 9(1), 43-52.

- OZCAN, T., YILMAZ-ERSAN, L., AKPINAR-BAYIZIT, A., DELIKANLI, B., & BARAT, A. (2015). Survival of *Lactobacillus* Spp. in Fruit Based Fermented Dairy Beverages. *International Journal of Food Engineering* 1(1), 44-49.
- PAKBIN, B., RAZAVI, S. H., MAHMOUDI, R., & GAJARBEYGI, P. (2014). Producing Probiotic Peach Juice. *Biotech Health Sci*, 1(3), 1-5.
- PALMERI, A., PEPE, I. M., ROLANDI, R., PAGANI, S., & MORELLI, A. (1999). Ion permeability induced by bacteriocins of *Lactobacillus acidophilus* M247 on artificial membranes. *Materials Science and Engineering, C* 8-9: 539-42.
- PÁPAI, G. (2021). Pro- és prebiotikumot tartalmazó savó alapú, fermentált tejtermékek élettani hatásának és a késztermék fogyasztói megfelelőségének vizsgálata. Doktori (PhD) Értekezés. Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Kaposvár, 22.
- PARK, K.Y., JEONG, J.K., LEE, Y.E., DAILY, & J.W. (2014). Health benefits of kimchi (Korean fermented vegetables) as a probiotic food *J Med Food*, 17(1), 6-20.
- PADONOU, S. W., NIELSEN, D. S., AKISSOE, N. H., HOUNHOUGAN, J. D., NAGO, M. C., & JAKOBSEN, M. (2010). Development of starter culture for improved processing of Lafun, an African fermented cassava food product. *Journal of Applied Microbiology*, 109(4), 1402-1410.
- PANDA, S.K., BEHERA, S.K., WITNESS QAKU, X., SEKAR, S., NDINTEH, D.T., NANJUNDASWAMY, H.M., RAY, R.C., & KAYITESI, E. (2016). Quality enhancement of prickly pears (*Opuntia* sp.) juice through probiotic fermentation using *Lactobacillus fermentum* - ATCC 9338. *LWT - Food Science and Technology* 75: 453-459.
- PAPP-BATA, Á., CSIKI, Z., & SZAKÁLY, Z. (2018). Az egészségvédő élelmiszerekkel kapcsolatos fogyasztói magatartás. A hiteles tájékoztatás szerepe. *Orvosi Hetilap*, 159(30), 1221-1225.
- PAPP, N., SZILAÁSSY, B., ABRANKÓ, L., SZABÓ, T., PFEIFFER, P., SZABÓ, Z., NYÉKI, J., ERCISLI, S., STEFANOVITS-BÁNYAI, É., & HEGEDŰS, A. (2010). Main quality attributes and antioxidants in Hungarian sour cherries: identification of genotypes with enhanced functional properties. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 395-402.
- PÁSKU, P., DOBRÁNSZKY, J., & RADA, P. (2014). Duplex acélcsövek orbitális hegesztése. 27. Hegesztési Konferencia, Budapest, 2014. május 22-24.
- PEDERSEN, M. B., GAUDU, P., LECHARDEUR, D., PETIT, M.-A., & GRUSS, A. (2012). Aerobic Respiration Metabolism in Lactic Acid Bacteria and Uses in Biotechnology. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3(1), 37-58.
- PEÑAS, E., FRIAS, J., SIDRO, B., & VIDAL-VALVERDE, C. (2010). Impact of fermentation conditions and refrigerated storage on microbial quality and biogenic amine content of sauerkraut. *Food Chemistry*, 123(1), 143-150.

- PENG, M., TABASHSUM, Z., ANDERSON, M., TRUONG, A., HOUSER, A. K., PADILLA, J., AKMEL, A., BHATTI, J., RAHAMAN, S. O., & BISWAS, D. (2020). Effectiveness of probiotics, prebiotics, and prebiotic-like components in common functional foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4), 1908-1933.
- PENG, W., MENG, D., YUE, T., WANG, Z., & GAO, Z. (2021). Effect of the apple cultivar on cloudy apple juice fermented by a mixture of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, and *Lactobacillus fermentum*. *Food Chemistry*, 340, 127922.
- PERDIGÓN, G., LOCASCIO, M., MEDICI, M., HOLGADO, A. P. R., & OLIVER, G. (2003). Interaction of bifidobacteria with the gut and their influence in the immune function. *Biocell*, 27(1), 1-9.
- PEREIRA, A. L. F., MACIEL, T. C., & RODRIGUES, S. (2011). Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. *Food Research International*, 44(5), 1276-1283.
- PERES, C. M., PERES, C., HERNÁNDEZ-MENDOZA, A., & MALCATA, F. X. (2012). Review on fermented plant materials as carriers and sources of potentially probiotic lactic acid bacteria - With an emphasis on table olives. *Trends in Food Science & Technology*, 26, 31-42.
- PERRICONE, M., CORBO, M. R., SINIGAGLIA, M., SPERANZA, B., & BEVILACQUA, A. (2014). Viability of *Lactobacillus reuteri* in fruit juices. *Journal of functional foods* 10: 421-426.
- PIMENTEL, T. C., MADRONA, G. S., & PRUDENCIO, S. H. (2015a). Probiotic clarified apple juice with oligofructose or sucralose as sugar substitutes: Sensory profile and acceptability. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 838-846.
- PIMENTEL, T. C., MADRONA, G. S., GARCIA, S., & PRUDENCIO, S. H. (2015b). Probiotic viability, physicochemical characteristics and acceptability during refrigerated storage of clarified apple juice supplemented with *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* and oligofructose in different package type. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1), 415-422.
- PISTOLLATO, F., GIAMPIERI, F., & BATTINO, M. (2015). The use of plant-derived bioactive compounds to target cancer stem cells and modulate tumor microenvironment. *Food and Chemical Toxicology*, 75, 58-70.
- PLACKETT, R. L., & BURMAN, J. P. (1946). The Design of Optimum Multifactorial Experiments. *Biometrika* 33 (4), 305-25.
- PONCE, O., OLIVEIRA, R., & CESAR, T. (2019). Orange juice associated with a balanced diet mitigated risk factors of metabolic syndrome: A randomized controlled trial. *Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism*, 100101.
- POT, B. (2008). The taxonomy of lactic acid bacteria. In: *Bactéries Lactiques de la Génétique aux Ferments*. Eds Corrieu, G. - Luquet, F.M. Lavoisier, Paris, France, 1-152.

- PRADO, F. C., PARADA, J. L., PANDEY, A., & SOCCOL, C. R. (2008). Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Research International*, 41(2), 111-123.
- PUERARI, C., MAGALHÃES, K. T., & SCHWAN, R. F. (2012). New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. *Food Research International*, 48(2), 634-640.
- RANADHEERA, R. D. C. S., BAINES, S. K., & ADAMS, M. C. (2010). Importance of food in probiotic efficacy. *Food Research International*, 43(1), 1-7.
- RANDAZZO, C. L., PITINO, I., LICCIARDELLO, F., MURATORE, G., & CAGGIA, C. (2013). Survival of *Lactobacillus rhamnosus* probiotic strains in peach jam during storage at different temperatures. *Food Science and Technology (Campinas)* 30(4):1-8.
- RANDAZZO, C. L., RESTUCCIA, C., ROMANO, A. D., & CAGGIA, C. (2004). *Lactobacillus casei*, dominant species in naturally fermented Sicilian green olives, *International Journal of Food Microbiology*, 90, 9-14.
- RANDAZZO, W., CORONA, O., GUARCELLO, R., FRANCESCA, N., GERMANÀ, M. A., ERTEN, H., MOSCHETTI, G., & SETTANNI, L. (2016). Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. *Food Microbiology*, 54, 40-51.
- RASTALL, R. A., FULLER, R., GASKINS, H. R., & GIBSON, G. R. (2000). Colonic functional foods, 71-95. In: Gibson, G. R., Williams, C. M. (Eds.): *Functional food. Concept to product*. Cambridge, England: Woodhead Publishing Ltd. and CRC Press LLC 374.
- RATAJCZAK, A. E., RYCHTER, A. M., ZAWADA, A., DOBROWOLSKA, A., & KRELA-KAŻMIERCZAK, I. (2020). Lactose intolerance in patients with inflammatory bowel diseases and dietary management in prevention of osteoporosis. *Nutrition*, 111043.
- RAUTAVA, S., KALLIOMÄKI, M., & ISOLAURI, E. (2005). New therapeutic strategy for combating the increasing burden of allergic disease: Probiotics—A Nutrition, Allergy, Mucosal Immunology and Intestinal Microbiota (NAMI) Research Group report. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 116(1), 31-37.
- RAY, R. C., EL SHEIKHA, A. F., & SASI KUMAR, R. (2014). Oriental fermented functional (probiotic) food, Ray, R. C., Montet, D. (Eds.): *Microorganisms and Fermentation of Traditional Foods*. CRC Press, Boca Raton, 283-311.
- RAY, R. C., & PANDA, S. H. (2007). Lactic acid fermented fruits and vegetables: an overview. In: Palino, M. V. (Ed.): *Food Microbiology Research Trends*. Nova Science Publishers Inc., Hauppauge, 155-188.
- REPAJIĆ, M., BURSAC KOVAČEVIĆ, D., PUTNIK, P., DRAGOVIĆ-UZELAC, V., KUST, J., & ČOSIĆ, Z. (2015). Influence of cultivar and industrial processing on polyphenols in concentrated sour cherry (*Prunus cerasus L.*) juice. *Food Technology and Biotechnology* 53(2): 215-222.

- RHEE, S. J., LEE, J.-E., & LEE, C.-H. (2011). Importance of lactic acid bacteria in Asian fermented foods, *Microbial Cell Factories*, 10(1), S5.
- RICCI, A., CIRLINI, M., LEVANTE, A., DALL'ASTA, C., GALAVERNA, G., & LAZZI, C. (2018). Volatile profile of elderberry juice: Effect of lactic acid fermentation using *L. plantarum*, *L. rhamnosus* and *L. casei* strains. *Food Research International* 105: 412-422.
- RIVERA-ESPINOZA, Y., & GALLARDO-NAVARRO, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27(1), 1-11.
- RODLER, I. (2005). A bélflóra, Prebiotikumok, A gyomor-bél traktus immunrendszere és működése. *Élelmezés és táplálkozás egészségtan*. Budapest, Medicina Könyvkiadó, 35-40. 118-119.
- RODRÍGUEZ, H., LANDETE, J. M., RIVAS, B. D. L., & MUÑOZ, R. (2008) Metabolism of food phenolic acids by *Lactobacillus plantarum* CECT 748T. *Food Chemistry*, 107(4): 1393-1398.
- ROJAS, M. L., ALVIM, I. D., & AUGUSTO, P. E. D. (2019). Incorporation of microencapsulated hydrophilic and lipophilic nutrients into foods by using ultrasound as a pre-treatment for drying: a prospective study. *Ultrasonics Sonochemistry*, 54, 153-161.
- ROS-CHUMILLAS, M., BELISSARIO, Y., IGUAZ, A., & LÓPEZ, A. (2007). Quality and shelf life of orange juice aseptically packaged in PET bottles. *Journal of Food Engineering*, 79(1), 234–242.
- ROSS, P. R., MORGAN, S., & HILL, C. (2002). Preservation and fermentation: past, present and future. *International Journal of Food Microbiology*, 79(1-2), 3-16.
- RUIZ-BARBA, J. L., BRENES-BALBUENA, M., JIMÉNEZ-DÍAZ, R., GARCÍA-GARCÍA, P., & GARRIDO-FERNÁNDEZ, A. (1993). Inhibition of *Lactobacillus plantarum* by polyphenols extracted from two different kinds of olive brine. *Journal of Applied Bacteriology* 74: 15-19.
- RUIZ RODRÍGUEZ, L. G., MANUEL ZAMORA GASGA, V., PESCUMA, M., VAN NIEUWENHOVE, C., MOZZI, F., & ALBERTO SÁNCHEZ BURGOS, J. (2020). Fruits and fruit by-products as sources of bioactive compounds. Benefits and trends of lactic acid fermentation in the development of novel fruit-based functional beverages. *Food Research International*, 109854.
- RUPPERT, T., CSALODI, R., & ABONYI, J. (2021). Estimation of machine setup and changeover times by survival analysis. *Computers & Industrial Engineering*, 153, 107026
- SAARELA, M., MOGENSEN, G., FONDÉN, R., MÄTTÖ, J., & MATTILA-SANDHOLM, T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*, 84(3), 197-215.

- SABIR, S., QURESHI, R., ARSHAD, M., AMJAD, M. S., FATIMA, S., MASOOD, M., SABOON, CHAUDHARI, & S. K. (2015). Pharmacognostic and clinical aspects of *Cydonia oblonga*: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(11), 850-855.
- SAHAMISHIRAZI, S., MOEHRING, J., CLAUPEIN, W., & GRAEFF-HOENNINGER, S. (2017). Quality assessment of 178 cultivars of plum regarding phenolic, anthocyanin and sugar content. *Food Chemistry*, 214, 694-701.
- SÁNCHEZ, B., RUIZ, L., GUEIMONDE, M., RUAS-MADIEDO, P., & MARGOLLES, A. (2012). Toward improving technological and functional properties of probiotics in foods. *Trends in Food Science and Technology*, 26, 56-63.
- SANDERS, M. A. (1999). Probiotics. *Food Technology*, 53: 67.
- SANDERS, M. E., & KLAENHAMMER, T. R. (2001). Invited Review: The Scientific Basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM Functionality as a Probiotic. *Journal of Dairy Science*, 84(2), 319-331.
- SCHILLINGER, U. & LÜCKE, F.K. (1989) Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Applied and Environmental Microbiology*, 55, 1901-1906.
- SCHLEIFER, K. H. & LUDWIG, W. (1995). Phylogeny of the Genus *Lactobacillus* and Related Genera. *Systematic and Applied Microbiology*, 18, 461-467.
- SENGUN, I. Y., KIRMIZIGUL, A., ATLAMA, K., & YILMAZ, B. (2019). The viability of *Lactobacillus rhamnosus* in orange juice fortified with nettle (*Urtica dioica* L.) and bioactive properties of the juice during storage. *LWT*, 108707.
- SEPTEMBRE-MALATERRE, A., REMIZE, F., & POUCHERET, P. (2018). Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation. *Food Research International*, 104, 86-99.
- SERVIN A L., COCONNIER M-H. (2003): Adhesion of probiotic strains to the intestinal mucosa and interaction with pathogens. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 17 (5) 741-754.
- SETTANNI, L., & CORSETTI, A. (2008). Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 121(2), 123-138.
- SGOURAS, D., MARAGKOUidakis, P., PETRAKI, K., MARTINEZ-GONZALEZ, B., ERIOTOU, E., MICHPOULOS, S., KALANTZOPOULOS, G., TSAKALIDOU, E., & MENTIS, A. (2004). In Vitro and In Vivo Inhibition of *Helicobacter pylori* by *Lactobacillus casei* Strain Shirota. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(1), 518-526.
- SHAH, N. P. (2007). Functional cultures and health benefits. *International Dairy Journal*, 17(11), 1262-1277.
- SHEEHAN, V. M., ROSS, P., & FITZGERALD, G. F. (2007). Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8, 279-284.

- SHEKH, S. L., BORICHA, A. A., CHAVDA, J. G., & VYAS, B. R. M. (2020). Probiotic potential of lyophilized *Lactobacillus plantarum* GP. *Annals of Microbiology*, 70(16), 1-12.
- SHEKH, S. L., DAVE, J. M., & VYAS, B. R. M. (2016). Characterization of *Lactobacillus plantarum* strains for functionality, safety and γ -amino butyric acid production. *LWT*, 74, 234-241.
- SHORI, A. A. (2016). Influence of foodmatrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. *Food Bioscience*, 13: 1-8.
- SILALAH, J., NADARASON, D., & E SILALAH, Y. C. (2018). The effect of storage condition on antioxidant activity of probiotics in yogurt drinks. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(12), 280.
- SILVA, B. M., ANDRADE, P. B., FERRERES, F., SEABRA, R. M., BEATRIZ, M., OLIVEIRA, P. P., & FERREIRA, M. A. (2005). Composition of Quince (*Cydonia oblonga* Miller) seeds: phenolics, organic acids and free amino acids. *Natural Product Research*, 19(3), 275-281.
- SILVA, B. M., ANDRADE, P. B., VALENTÃO, P., FERRERES, F., SEABRA, R. M., & FERREIRA, M. A. (2004). Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit (pulp, peel, and seed) and jam: antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(15), 4705-4712.
- SIMIĆ, V. M., RAJKOVIĆ, K. M., STOJIČEVIĆ, S. S., VELIČKOVIĆ, D. T., NIKOLIĆ, N. Č., LAZIĆ, M. L., & KARABEGOVIĆ, I. T. (2016). Optimization of microwave-assisted extraction of total polyphenolic compounds from chokeberries by response surface methodology and artificial neural network. *Separation and Purification Technology*, 160, 89-97.
- SIMON-SARKADI, L., GELENCSE, É., VIDA, A. (2003). Immunoassay method for detection of histamine in foods. *Acta Alimentaria*, 32(1), 89-93.
- SINDHU, S. C., & KHETARPAUL, N. (2001). Probiotic fermentation of indigenous food mixture: Effect on antinutrients and digestibility of starch and protein. *Journal of Food Composition and Analysis*, 14, 601-609.
- SINGH, A. K., & RAMESH, A. (2008). Succession of dominant and antagonistic lactic acid bacteria in fermented cucumber: Insights from a PCR-based approach. *Food Microbiology*, 25(2), 278-287.
- SINGLETON, V.L., ORTHOFER, R., & LAMUELA-RAVENTOS, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- SIRÓ, I., KÁPOLNA, E., KÁPOLNA, B., & LUGASI, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance – A review. *Appetite*, 51(3), 456-467.
- SOFÍA ISAS, A., SALOMÉ MARIOTTI-CELIS, M., RICARDO PÉREZ-CORREA, J., FUENTES, E., RODRÍGUEZ, L., PALOMO, I., MOZZI, F., & VAN NIEUWENHOVE, C.

(2020). Functional fermented Cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) juice using autochthonous lactic acid bacteria. *Food Research International*, 109729.

SOLTÉSZ, M. (Szerk.) (1997). *Integrált gyümölcsstermesztés*. Mezőgazda Kiadó, Budapest.

SPENCER, S. P., FRAGIADAKIS, G. K., & SONNENBURG, J. L. (2019). Pursuing Human-Relevant Gut Microbiota-Immune Interactions. *Immunity*, 51(2), 225-239.

SREDOJEVIC, Z. (2014). Value chain analysis of region specific organic production in Serbia. FAO Government Cooperative Programme. Assistance to the Development of Capacity and Support Services for Organic Agriculture in Serbia. GCP/SRB/001/HUN.

STRIGL, A. W., LEITNER, E., & PFANNHAUSER, W. (1995). Die Schwarze Apfelbeere (*Aronia melanocarpa*) als natürliche Farbstoffquelle. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 91(6): 177-180.

ŠUKLJE, K., ANTALICK, G., BUICA, A., COETZEE, Z. A., BRAND, J., SCHMIDTKE, L. M., & VIVIER, M. A. (2016). Inactive dry yeast application on grapes modify Sauvignon Blanc wine aroma. *Food Chemistry*, 197, 1073-1084.

SUN, L., LI, X., ZHANG, Y., YANG, W., MA, G., MA, N., HU, Q., & PEI, F. (2019). A novel lactic acid bacterium for improving the quality and shelf life of whole wheat bread. *Food Control*, 106914.

SWAIN, M. R., ANANDHARAJ, M., RAY, R. C., & PARVEEN RANI, R. (2014). Fermented Fruits and Vegetables of Asia: A Potential Source of Probiotics. *Biotechnology Research International*, 1-19.

SWAIN, M. R., & RAY, R. C. (2016). Nutritional values and bioactive compounds in lactic acid fermented vegetables and fruits. In: S. Paramithiotis (Ed.): *Lactic Acid Fermentation of Fruits and Vegetables*. CRC Press, Boca Raton, 37-52.

SZAKÁLY, S. (2004). A probiotikumokkal kapcsolatos alapismeretek. In: *Probiotikumok és Humánegészség: Vissza a Természethez!* Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet, Budapest, 4-17.

SZALAY, L., MOLNÁR, Á., & KOVÁCS, S. (2017). Frost hardiness of flower buds of three plum (*Prunus domestica* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 214, 228-232.

TABASCO, R., SÁNCHEZ-PATÁN, F., MONAGAS, M., BARTOLOMÉ, B., MORENO-ARRIBAS, M. V., PELÁEZ, C., & REQUENA, T. (2011). Effect of grape polyphenols on lactic acid bacteria and bifidobacteria growth: Resistance and metabolism. *Food Microbiology* 28(7): 1345-1352.

TAGG, J.R., DAJANI, A.S. & WANNAMAKER, L.W. (1976). Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Bacteriological Reviews* 40, 722-756.

TAHERI, R., CONNOLLY, B. A., BRAND, M. H., & BOLLING, B. W. (2013). Underutilized Chokeberry (*Aronia melanocarpa*, *Aronia arbutifolia*, *Aronia prunifolia*)

- Accessions Are Rich Sources of Anthocyanins, Flavonoids, Hydroxycinnamic Acids, and Proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(36), 8581-8588.
- TEIXEIRA, P., CASTRO, H., MALCATA, F. X., & KIRBY, R. (1995). Survival of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* following spray-drying. *Journal of Dairy Science*. 78: 1025-1031.
- THE OXOID (1976). *The Oxoid Manual, Third Edition (Revised)*, 192.
- THE PLANT LIST (2013). *The Plant List, Version 1.1*, Royal Botanic Gardens, Kew & Missouri Botanical Garden: <http://www.theplantlist.org/1.1/browse/A/Rosaceae/Prunus/>
- TOLIĆ, M.-T., LANDEKA JURČEVIĆ, I., PANJKOTA KRBAVČIĆ, I., MARKOVIĆ, K., & VAHČIĆ, N. (2015). Phenolic Content, Antioxidant Capacity and Quality of Chokeberry (*Aronia Melanocarpa*) Products. *Food Technology and Biotechnology*, 53(2), 171-179.
- 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.
- VACCALLUZZO, A., PINO, A., RUSSO, N., DE ANGELIS, M., CAGGIA, C., & RANDAZZO, C. L. (2020). FoodOmics as a new frontier to reveal microbial community and metabolic processes occurring on table olives fermentation. *Food Microbiology*, 103606.
- VALCHEVA-KUZMANOVA, S., KUZMANOV, A., KUZMANOVA, V., & TZANEVA, M. (2018). *Aronia melanocarpa* fruit juice ameliorates the symptoms of inflammatory bowel disease in TNBS-induced colitis in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 113, 33-39.
- VAN BOEKEL, M. A. J. S. (2002). On the use of the Weibull model to describe thermal inactivation of microbial vegetative cells. *International Journal of Food Microbiology*, 74, 139-159.
- VERÓN, H. E., DI RISIO, H. D., ISLA, M. I., & TORRES, S. (2017). Isolation and selection of potential probiotic lactic acid bacteria from *Opuntia ficus-indica* fruits that grow in Northwest Argentina. *LWT*, 84, 231-240.
- VERÓN, H. E., GAUFFIN CANO, P., FABERSANI, E., SANZ, Y., ISLA, M. I., FERNÁNDEZ ESPINAR, M. T., GIL PONCE, J. V., & TORRES, S. (2019). Cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice fermented with autochthonous *Lactobacillus plantarum* S-811. *Food & Function*, 10, 1085-1097.
- VIJAYA KUMAR, B., VIJAYENDRA, S. V. N., & REDDY, O. V. S. (2015). Trends in dairy and non-dairy probiotic products - a review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(10), 6112-6124.
- VIVEK, K., MISHRA, S., PRADHAN, R.C., & JAYABALAN, R. (2019). Effect of probiotification with *Lactobacillus plantarum* MCC 2974 on quality of Sohiong juice. *LWT - Food Science and Technology* 108: 55-60.

- WALKOWIAK-TOMCZAK, A. (2008). Characteristics of plums as a raw material with valuable nutritive and dietary properties - A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 58 (4), 401-405.
- WANG, W., CHENG, Y., TAN, G. (2018). Design Optimization of SBS-Modified Asphalt Mixture Reinforced with Eco-Friendly Basalt Fiber Based on Response Surface Methodology. *Materials*, 11(8), 1311.
- WANG, X., HAN, M., ZHANG, M., WANG, Y., REN, Y., YUE, T., & GAO, Z. (2021). In vitro evaluation of the hypoglycemic properties of lactic acid bacteria and its fermentation adaptability in apple juice. *LWT*, 136, 110363.
- WEIBULL, W. (1951). A Statistical Distribution Function of Wide Applicability. *Journal of Applied Mechanics*, 18, 293-297.
- WIBOWO, S., GRAUWET, T., SANTIAGO, J. S., TOMIC, J., VERVOORT, L., HENDRICKX, M., & VAN LOEY, A. (2015). Quality changes of pasteurised orange juice during storage: A kinetic study of specific parameters and their relation to colour instability. *Food Chemistry*, 187: 140-151.
- WLODZIMIERZ, G., ANNA, O., & ANNA, S. (2005). Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. *Acta Biochimica Polonica*. 52(3): 665-671.
- WOOD, B.J.B. & WARNER, P.J. (2003). *Genetics of Lactic Acid Bacteria*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, NY, 396.
- WU, Q., & SHAH, N. P. (2016). High γ -aminobutyric acid production from lactic acid bacteria: Emphasis on *Lactobacillus brevis* as a functional dairy starter. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(17), 3661–3672.
- WU, X., GU, L., PRIOR, R. L., & MCKAY, S. (2004). Characterization of Anthocyanins and Proanthocyanidins in Some Cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and Their Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7846-7856.
- XAVIER-SANTOS, D., BEDANI, R., LIMA, E. D., & SAAD, S. M. I. (2019). Impact of probiotics and prebiotics targeting metabolic syndrome. *Journal of Functional Foods*, 103666.
- YAN, F., CAO, H., COVER, T. L., WASHINGTON, M. K., SHI, Y, LIU, L., CHATURVEDI, R., PEEK JR, R. M., WILSON, K. T., POLK, D. B. (2011). Colon-specific delivery of a probiotic-derived soluble protein ameliorates intestinal inflammation in mice through an EGFRdependent mechanism. *Journal of Clinical Investigation*, 121(6), 2242-2253.
- YÁÑEZ, R., MARQUES, S., GÍRIO, F. M., & ROSEIRO, J. C. (2008). The effect of acid stress on lactate production and growth kinetics in *Lactobacillus rhamnosus* cultures. *Process Biochemistry*, 43(4), 356-361.
- YOON, K. Y., WOODAMS, E. E., & HANG, Y. D. (2004a). Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 38, 73-75.

- YOON, K. Y., WOODAMS, E. E., & HANG, Y. D. (2004b). Probiotication of Tomato Juice by Lactic Acid Bacteria. *The Journal of Microbiology*, 42(4), 315-318.
- YOUSEFI, B., ESLAMI, M., GHASEMIAN, A., KOKHAEI, P., & SADEGHNEJHAD, A. (2019). Probiotics can really cure an autoimmune disease? *Gene Reports* (15), 100364.
- ZHENG, W., & WANG, S. Y. (2003). Oxygen Radical Absorbing Capacity of Phenolics in Blueberries, Cranberries, Chokeberries, and Lingonberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(2), 502-509.
- ZHENG, J., WITTOUCK, S., SALVETTI, E., FRANZ, C. M. A. P., HARRIS, H. M. B., MATTARELLI, P., O'TOOLE, P. W., POT, B., VANDAMME, P., WALTER, J., WATANABE, K., WUYTS, S., FELIS, G. E., GÄNZLE, M. G., & LEBEER, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782-2858.
- ZHOU, W., SHU, Q., ZHANG, X., & CHEN, Q. (2020). Application of mixed-culture with *Lactobacillus brevis* and *Saccharomyces cerevisiae* to Chinese yellow rice wine brewing for ethyl carbamate regulation. *Food Control*, 107821.
- ZHU, S., CAMPANELLA, O., & CHEN, G. (2021). Estimation of parameters in the Weibull model from microbial survival data obtained under constant conditions with come-up times. *Journal of Food Engineering*, 292, 110364.
- ZHU, W., LYU, F., NAUMOVSKI, N., AJLOUNI, S., & RANADHEERA, CS. (2020). Functional Efficacy of Probiotic *Lactobacillus sanfranciscensis* in Apple, Orange and Tomato Juices with Special Reference to Storage Stability and In Vitro Gastrointestinal Survival. *Beverages*, 6, 13.

M2. Narancslé eredmények

M2.1. táblázat: pH változás a fermentáció során a különböző tápanyagokkal kiegészített és/vagy pH állított narancslében

Kiegészítés	Friss			Sűrítmény			Nem-sűrítmény		
	Inkubációs idő (h)								
	0	24	48	0	24	48	0	24	48
K	3,12	3,14	3,34	3,66	3,64	3,61	3,79	3,67	3,75
pH	7,04	5,33	4,58	7,00	4,72	4,22	7,02	4,87	4,24
ÉK	3,17	3,24	3,40	3,78	3,55	3,54	3,62	3,75	3,78
ÉK+pH	7,02	4,33	4,05	7,02	4,02	3,88	7,05	4,29	3,91
ÉK+pH+D	6,98	4,10	3,75	6,99	3,90	3,72	6,96	4,35	3,77
ÉK+pH+F	6,99	3,97	3,74	6,99	4,00	3,73	7,01	4,21	3,81
ÉK+pH+D+F	6,98	4,10	3,83	6,99	3,91	3,73	6,94	4,59	3,81
P	4,25	3,52	3,49	3,97	3,45	3,50	4,09	3,55	3,49
P+pH	7,10	4,20	3,94	7,06	4,03	4,07	7,03	4,10	3,69
P+ÉK	4,29	3,53	3,52	4,01	3,47	3,49	4,02	3,51	3,48
P+ÉK+pH	7,10	3,91	3,81	7,00	3,94	3,65	7,02	3,97	3,80
P+ÉK+pH+D	7,03	3,91	3,88	6,97	4,15	3,89	6,97	3,94	4,00
P+ÉK+pH+F	6,98	3,86	3,86	7,00	4,03	3,93	6,98	3,88	4,09
P+ÉK+pH+D+F	7,02	3,90	3,94	7,00	4,21	3,89	6,98	4,06	4,03

K: kontroll, pH: beállított pH (7), ÉK: élesztőkivonat (4 g/l), P: pepton (10 g/l), D: dextróz (30 g/l), F: dikálium-hidrogén-foszfát (2 g/l)

M2.2. táblázat: *L. rhamnosus* GG sejtszám (log TKE/ml) változás tárolás során narancslében

Narancslé	Kiegészítés	Tárolási idő (hét)									
		0		1		2		3		4	
		24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C
Friss	K	9,009	8,893	9,037	8,590	9,149	7,980	8,893	6,667	8,834	
	P+D+pH	9,389	8,744	9,407	8,407	9,021	7,630	8,834	7,248	8,248	
	O	9,342	8,576	9,356	8,037	9,057	7,149	8,677	6,201	8,021	
Sűrítmény	K	9,029	8,859	9,533	8,980	9,000	7,338	9,176	6,635	9,064	
	P+D+pH	9,470	8,592	9,201	8,161	9,382	7,862	8,836	7,619	8,373	
	O	9,417	8,851	9,576	8,161	9,477	7,937	9,301	7,064	8,782	
Nem-sűrítmény	K	9,436	8,544	8,587	8,544	8,582	7,875	8,587	6,161	8,653	
	P+D+pH	9,394	8,260	9,407	8,925	9,134	7,422	8,703	7,176	8,544	
	O	9,401	8,602	9,450	8,000	9,238	7,260	9,161	5,699	8,758	

K: kontroll, pH: beállított pH (7), P: pepton (10 g/l), D: dextróz (30 g/l), O: optimalizált (pH=7, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

M2.3. táblázat: pH változás tárolás során *L. rhamnosus* GG törzssel fermentált narancslében

Narancslé	Kiegészítés	Tárolási idő (hét)									
		0		1		2		3		4	
		24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C		
Friss	NF	3,60	3,24	3,60	3,06	3,52	2,94	3,51	2,76	3,31	
	K	3,33	3,11	3,28	3,00	3,19	2,86	3,09	2,68	2,89	
	P+D+pH	4,09	3,75	4,02	3,60	3,92	3,49	3,86	3,31	3,71	
	O	4,03	3,69	3,96	3,55	3,86	3,45	3,81	3,29	3,64	
Sűrítmény	NF	3,74	3,35	3,76	3,13	3,67	2,97	3,61	2,81	3,43	
	K	3,45	3,21	3,41	3,06	3,31	2,90	3,24	2,83	3,01	
	P+D+pH	4,04	3,78	3,92	3,64	3,89	3,52	3,83	3,36	3,65	
	O	4,00	3,66	3,92	3,54	3,81	3,43	3,77	3,28	3,56	
Nem-sűrítmény	NF	3,69	3,30	3,71	3,11	3,63	2,94	3,56	2,76	3,36	
	K	3,42	3,17	3,36	3,03	3,26	2,89	3,13	2,72	2,96	
	P+D+pH	4,01	3,76	3,96	3,62	3,86	3,51	3,79	3,36	3,65	
	O	3,99	3,67	3,90	3,54	3,79	3,46	3,73	3,34	3,55	

NF: nem fermentált, K: kontroll, pH: beállított pH (7), P: pepton (10 g/l), D: dextróz (30 g/l), O: optimalizált (pH=7, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

M2.4. táblázat: Titrálható savtartalom (tejsavra (m/V%)) változás tárolás során *L. rhamnosus* GG törzssel fermentált narancslében

Narancslé	Kiegészítés	Tárolási idő (hét)									
		0		1		2		3		4	
		24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C		
Friss	NF	0,9458	1,8016	1,0810	1,8917	1,1710	2,2070	1,1710	2,2070	1,1260	
	K	1,3962	1,9818	1,5314	2,3421	1,6665	2,3871	1,7115	2,4322	1,7115	
	P+D+pH	1,3512	2,0268	1,4413	2,7925	1,5764	2,6574	1,5764	2,4772	0,9008	
	O	1,0359	1,9367	1,1260	2,1619	1,3062	2,0718	1,3062	2,1619	1,2611	
Sűrítmény	NF	1,0810	1,5764	1,0810	2,0718	1,1260	1,9818	1,1260	2,4322	1,2161	
	K	1,3962	1,8917	1,3962	2,3421	1,5764	2,2520	1,5764	2,5222	1,5764	
	P+D+pH	1,5314	1,9367	1,4863	2,2520	1,6214	2,2520	1,6214	2,5222	1,5764	
	O	1,1710	1,8016	1,3062	2,1169	1,3512	2,2520	1,9362	2,2520	1,3962	
Nem-sűrítmény	NF	1,0359	1,4863	1,0359	1,8016	1,0359	2,0268	1,0359	2,1169	1,0810	
	K	1,2611	1,8016	1,3512	2,0718	1,3962	2,1619	1,4413	2,2070	1,5314	
	P+D+pH	1,3962	1,8917	1,4863	2,1169	1,5764	2,1619	1,6665	2,3421	1,5314	
	O	1,1260	1,6214	1,1710	1,8016	1,2611	1,8917	1,3062	1,9818	1,3062	

NF: nem fermentált, K: kontroll, pH: beállított pH (7), P: pepton (10 g/l), D: dextróz (30 g/l), O: optimalizált (pH=7, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

M2.5. táblázat: Összes oldott szárazanyag-tartalom változás tárolás során *L. rhamnosus* GG törzzsel fermentált narancslében

Narancslé	Kiegészítés	Tárolási idő (hét)									
		0		1		2		3		4	
		24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C
Friss	NF	12,6	12,3	12,6	12,6	12,9	12,0	12,7	12,0	12,8	
	K	12,5	12,3	12,7	12,3	12,7	12,2	12,6	12,2	12,7	
	P+D+pH	13,2	13,0	13,1	13,1	13,3	13,0	13,3	12,9	13,3	
	O	16,6	16,3	16,8	16,5	16,7	16,4	16,8	16,5	16,9	
Sűrítmény	NF	10,7	10,5	10,9	10,5	11,2	10,3	11,0	10,3	11,1	
	K	10,6	10,3	10,5	10,1	10,7	10,3	10,6	10,4	10,6	
	P+D+pH	11,6	11,4	11,6	11,4	11,9	11,9	11,8	11,3	11,8	
	O	15,0	14,8	15,1	14,7	15,3	14,8	15,2	14,9	15,2	
Nem-sűrítmény	NF	9,5	9,1	9,6	9,0	9,6	9,1	9,7	9,1	9,6	
	K	9,3	9,0	9,3	8,9	9,2	9,1	9,6	9,2	9,3	
	P+D+pH	10,3	10,2	10,4	10,3	10,6	10,3	10,5	10,5	10,6	
	O	13,9	13,8	14,1	13,8	14,1	13,6	14,1	13,8	14,1	

NF: nem fermentált, K: kontroll, pH: beállított pH (7), P: pepton (10 g/l), D: dextróz (30 g/l), O: optimalizált (pH=7, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

M2.6. táblázat: *Lactobacillus* sejtszám (log TKE/ml) változás sűrítmenyből készült narancslében a törzsszelekció során

<i>Lactobacillus</i>		Tárolási idő (hét)													
		0		1		2		3		4		5		6	
		24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C
LGG	K	7,905	8,597	7,920	9,277	8,102	8,748	8,016	9,277	8,070	8,662	8,126	8,622	8,052	
	O	9,221	9,444	9,377	9,566	9,507	9,325	9,436	7,504	9,468	<5,699	9,578	<2,699	9,522	
Shirota	K	9,086	8,962	8,936	8,862	8,981	7,581	8,828	8,862	8,847	5,627	9,233	<2,699	9,028	
	O	9,205	9,231	9,387	8,201	9,450	7,564	9,389	7,068	9,365	5,775	9,353	<2,699	8,956	
Reuteri	K	7,742	8,239	6,900	9,179	6,699	8,528	4,938	9,179	4,035	7,533	3,920	5,151	3,675	
	O	7,779	7,396	7,046	8,939	n.a.	8,668	5,175	8,310	4,344	7,952	4,250	8,042	4,227	
LA-5	K	n.a.	8,241	n.a.	8,353	8,264	8,283	n.a.	8,353	n.a.	7,597	n.a.	7,081	n.a.	
	O	n.a.	9,306	6,938	9,069	6,879	7,980	5,754	7,228	6,014	6,319	6,183	5,151	6,220	
L150	K	8,204	8,476	8,308	8,596	8,405	8,571	8,369	8,596	8,226	<5,699	8,510	n.a.	8,462	
	O	8,612	8,670	8,720	9,089	8,819	9,448	8,706	7,986	8,710	6,542	9,001	<2,699	8,671	
LC-01	K	9,082	8,123	9,103	n.a.	8,384	7,286	8,649	7,350	8,859	6,040	8,238	5,722	8,422	
	O	9,692	9,616	9,692	9,699	9,711	9,159	9,810	8,649	9,530	6,483	9,117	<3,699	9,591	

K: kontroll, O: optimalizált (pH=7, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz), n.a.: nincs adat

M2.7. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő sejtszámra az optimalizált, sűrítmenyből készült narancslében

	LGG	Shirota	Reuteri	LA-5	L150	LC-01
LGG	-	0,001	0,000	n.a.	0,000	0,000
Shirota	0,001	-	0,000	n.a.	0,000	0,000
Reuteri	0,000	0,000	-	n.a.	0,369	0,000
LA-5	n.a.	n.a.	n.a.	-	n.a.	n.a.
L150	0,000	0,000	0,369	n.a.	-	0,000
LC-01	0,000	0,000	0,000	n.a.	0,000	-

M2.8. táblázat: pH változás sűrítményből készült narancslében a törzsszelekció során

<i>Lactobacillus</i>		Tárolási idő (hét)													
		0		1		2		3		4		5		6	
		24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C
LGG	K	3,62	3,36	2,88	2,87	3,16	2,91	3,55	2,79	3,07	2,86	3,18	2,92	3,36	
	O	3,92	3,63	3,96	3,73	4,11	3,39	3,84	3,34	3,78	3,44	3,73	3,58	3,90	
Shirota	K	3,48	3,41	2,81	2,70	3,42	2,76	3,26	2,68	2,86	2,75	3,51	2,87	3,50	
	O	3,97	3,73	3,97	3,90	4,16	3,64	3,97	3,63	3,92	3,69	3,97	3,77	4,08	
Reuteri	K	3,61	3,65	2,87	2,97	3,57	2,88	3,17	2,81	2,98	2,90	3,32	3,01	3,14	
	O	4,74	4,43	4,83	4,21	4,93	3,82	4,79	3,78	4,82	3,75	4,74	3,85	4,94	
LA-5	K	3,70	3,63	3,17	3,02	3,33	3,13	3,58	3,13	3,28	3,15	3,29	3,30	3,25	
	O	6,08	3,83	5,88	4,08	6,15	3,74	5,79	3,69	5,81	3,78	5,73	3,98	4,83	
L150	K	3,60	3,37	3,65	2,85	3,08	2,95	3,69	2,86	3,10	2,81	3,51	3,22	3,13	
	O	4,32	3,66	4,28	3,91	4,40	3,60	4,04	3,54	3,90	3,57	3,74	3,73	4,12	
LC-01	K	3,72	3,40	3,41	3,28	3,37	2,88	3,19	3,01	2,96	2,73	3,18	3,03	3,04	
	O	4,15	3,63	4,03	3,82	4,17	3,44	3,85	3,39	3,69	3,41	3,76	3,61	3,89	

K: kontroll, O: optimalizált (pH=7, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

M2.9. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő pH-ra az optimalizált, sűrítményből készült narancslében

	LGG	Shirota	Reuteri	LA-5	L150	LC-01
LGG	-	0,998	0,002	0,000	0,071	0,391
Shirota	0,998	-	0,003	0,000	0,111	0,579
Reuteri	0,002	0,003	-	0,000	0,058	0,012
LA-5	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000
L150	0,071	0,111	0,058	0,000	-	0,649
LC-01	0,391	0,579	0,012	0,000	0,649	-

M2.10. táblázat: Összes oldott szárazanyag-tartalom változás sűrítményből készült narancslében a törzsszelekció során

<i>Lactobacillus</i>		Tárolási idő (hét)													
		0		1		2		3		4		5		6	
		24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C
LGG	K	10,5	10,3	10,7	12,0	10,8	8,3	11,0	7,8	10,8	7,0	10,3	6,5	10,9	
	O	14,7	14,8	14,9	14,7	14,9	14,3	14,7	14,7	15,0	14,8	14,9	14,8	14,9	
Shirota	K	10,5	10,3	10,9	9,5	10,8	8,2	10,8	7,6	10,9	6,8	10,6	5,9	10,7	
	O	14,9	14,8	15,1	14,8	15,1	14,5	14,9	14,9	15,2	14,8	15,1	14,8	15,0	
Reuteri	K	10,7	10,3	11,0	9,7	10,9	9,1	10,8	8,9	10,9	8,6	10,3	8,2	10,9	
	O	15,3	14,6	15,3	14,5	15,2	14,0	15,0	14,4	15,3	14,4	15,2	14,3	15,3	
LA-5	K	10,8	10,7	10,9	9,1	10,9	7,5	10,8	6,0	10,7	4,8	10,2	4,1	10,7	
	O	15,6	14,5	15,6	14,3	15,6	14,0	15,3	14,4	15,7	14,4	15,7	14,4	15,6	
L150	K	10,6	10,5	10,7	9,7	10,6	8,8	10,8	7,8	10,4	7,3	10,3	5,7	10,3	
	O	15,0	15,0	15,0	14,7	15,1	14,7	14,9	14,8	15,1	14,8	14,9	14,8	15,0	
LC-01	K	10,5	10,4	10,7	9,8	10,7	8,9	10,8	8,5	10,4	6,7	10,2	7,1	10,4	
	O	15,0	14,7	14,8	14,7	15,0	14,5	14,8	14,5	15,0	14,6	14,9	14,6	14,8	

K: kontroll, O: optimalizált (pH=7, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

M2.11. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes oldott szárazanyag-tartalomra az optimalizált, sűrítményből készült narancslében

	LGG	Shirota	Reuteri	LA-5	L150	LC-01
LGG	-	0,896	0,045	0,007	0,576	0,418
Shirota	0,896	-	0,137	0,016	0,978	0,896
Reuteri	0,045	0,137	-	0,418	0,293	0,418
LA-5	0,007	0,016	0,418	-	0,032	0,045
L150	0,576	0,978	0,293	0,032	-	0,999
LC-01	0,418	0,896	0,418	0,045	0,999	-

M2.12. táblázat: Titrálható savtartalom változás sűrítményből készült narancslében a törzsszelekció során (tejsavra (m/V%))

<i>Lactobacillus</i>		Tárolási idő (hét)													
		0		1		2		3		4		5		6	
		24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C
LGG	K	0,946	1,666	1,387	1,874	1,540	1,910	1,414	2,018	1,459	1,766	1,324	2,090	1,937	
	O	1,058	1,914	1,239	2,455	1,374	2,725	1,509	2,815	1,554	2,950	1,644	2,905	1,621	
Shirota	K	1,194	1,666	1,522	2,396	1,657	2,847	1,477	2,423	1,540	2,153	1,342	2,648	2,000	
	O	1,058	1,847	1,171	2,184	1,284	2,004	1,239	2,004	1,329	2,049	1,329	1,982	1,306	
Reuteri	K	1,103	1,306	1,378	1,892	1,495	1,883	1,378	1,910	1,405	1,657	1,225	2,072	1,712	
	O	0,676	0,946	0,653	1,689	0,766	1,959	0,721	2,139	0,698	2,229	0,698	2,117	0,586	
LA-5	K	0,991	1,036	0,874	1,387	1,063	1,369	0,856	1,522	1,045	1,522	0,955	1,712	1,099	
	O	0,248	1,441	0,248	1,712	0,405	1,712	0,270	1,847	0,248	2,027	0,315	2,139	0,428	
L150	K	0,968	1,576	0,946	1,748	1,216	1,730	1,153	2,072	1,342	1,946	1,126	2,486	1,261	
	O	0,721	1,486	0,923	1,914	1,126	2,049	1,194	2,229	1,261	2,500	1,486	2,522	1,689	
LC-01	K	0,856	1,644	0,964	1,955	1,198	2,036	1,225	2,414	1,324	2,288	1,189	2,549	1,378	
	O	0,811	1,779	0,811	2,297	1,351	2,387	1,419	2,657	1,621	2,883	1,824	2,747	2,094	

K: kontroll, O: optimalizált (pH=7, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

M2.13. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő titrálható savtartalomra az optimalizált, sűrítményből készült narancslében

	LGG	Shirota	Reuteri	LA-5	L150	LC-01
LGG	-	1,000	0,000	0,001	0,000	0,003
Shirota	1,000	-	0,000	0,001	0,000	0,003
Reuteri	0,000	0,000	-	0,773	0,000	0,053
LA-5	0,001	0,001	0,773	-	0,000	0,225
L150	0,000	0,000	0,000	0,000	-	0,000
LC-01	0,003	0,003	0,053	0,225	0,000	-

M2.14. táblázat: *Lactobacillus* sejtszám (log TKE/ml) változás nem-sűrítvényből készült narancslében a törzsszelekció során

<i>Lactobacillus</i>		Tárolási idő (hét)													
		0		1		2		3		4		5		6	
		24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C
LGG	K	6,925	6,593	6,377	6,613	6,516	7,044	6,323	7,071	6,412	5,799	6,337	3,938	5,870	
	O	8,305	8,839	8,497	8,644	8,511	8,727	8,380	8,315	8,536	6,889	8,466	6,472	8,362	
Shirota	K	7,342	8,682	6,742	8,659	6,331	7,454	6,136	5,739	6,228	5,028	5,952	3,872	5,578	
	O	9,262	9,204	9,200	7,699	9,184	6,080	9,221	5,482	9,292	4,857	9,064	3,890	8,765	
Reuteri	K	8,037	8,708	7,908	8,562	8,176	8,490	6,609	8,380	6,335	7,857	6,570	6,788	6,397	
	O	9,460	8,647	9,119	n.a.	9,064	4,384	9,051	4,347	9,144	3,206	9,315	n.a.	8,961	
LA-5	K	8,139	8,441	8,753	8,428	7,987	8,397	7,709	8,352	7,687	8,225	7,680	7,769	7,549	
	O	9,345	8,578	9,207	7,979	9,406	7,203	9,232	5,881	9,179	n.a.	8,985	n.a.	8,735	
L150	K	6,925	8,592	5,889	8,588	5,398	8,545	3,933	8,561	3,591	8,236	3,797	7,644	3,360	
	O	7,326	8,207	6,367	8,071	6,400	7,939	5,658	7,789	5,762	7,875	5,914	7,368	5,604	
LC-01	K	n.a.	6,313	6,491	6,647	6,506	7,756	6,163	7,811	5,608	7,944	5,672	8,007	5,742	
	O	9,219	9,358	8,549	9,193	8,374	9,017	8,372	8,393	8,137	7,829	8,149	6,940	8,016	

K: kontroll, O: optimalizált (pH=7, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

M2.15. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő sejtszámra az optimalizált, nem-sűrítvényből készült narancslében

	LGG	Shirota	Reuteri	LA-5	L150	LC-01
LGG	-	0,000	0,000	0,000	0,930	0,000
Shirota	0,000	-	0,000	0,318	0,000	0,979
Reuteri	0,000	0,000	-	0,012	0,000	0,000
LA-5	0,000	0,318	0,012	-	0,000	0,084
L150	0,930	0,000	0,000	0,000	-	0,000
LC-01	0,000	0,979	0,000	0,084	0,000	-

M2.16. táblázat: pH változás nem-sűrítvényből készült narancslében a törzsszelekció során

<i>Lactobacillus</i>		Tárolási idő (hét)													
		0		1		2		3		4		5		6	
		24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C
LGG	K	3,91	3,93	3,74	3,47	3,58	3,09	3,43	3,44	3,71	3,03	3,38	3,05	3,37	
	O	4,54	4,05	4,29	3,71	4,10	3,28	3,69	3,55	3,98	3,19	3,65	3,24	3,59	
Shirota	K	3,59	3,60	3,66	3,39	3,60	3,14	3,30	3,47	3,66	3,10	3,35	3,14	3,36	
	O	4,39	3,96	4,27	3,72	4,11	3,65	3,73	3,76	4,00	3,44	3,69	3,48	3,70	
Reuteri	K	3,61	3,38	3,70	3,24	3,63	3,32	3,74	3,09	3,44	3,20	3,68	3,38	3,70	
	O	4,23	3,81	4,24	3,71	4,12	3,80	4,20	3,63	3,95	3,77	4,09	3,86	4,15	
LA-5	K	3,61	3,43	3,69	3,27	3,58	3,36	3,67	3,11	3,47	3,25	3,61	3,31	3,67	
	O	4,25	3,91	4,24	3,78	4,12	3,88	4,23	3,69	4,00	3,84	4,16	3,95	4,16	
L150	K	3,69	3,27	3,80	3,25	3,72	3,37	3,92	3,06	3,63	3,26	3,78	3,33	3,80	
	O	5,34	3,94	5,03	3,76	4,77	3,81	4,75	3,64	4,48	3,78	4,55	3,83	4,58	
LC-01	K	3,62	3,65	4,04	3,58	3,90	3,39	3,61	3,35	3,65	2,91	3,31	3,26	3,64	
	O	4,55	3,82	4,57	3,62	4,29	3,35	3,97	3,50	4,23	3,08	3,94	3,49	4,20	

K: kontroll, O: optimalizált (pH=7, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

M2.17. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő pH-ra az optimalizált, nem-sűrítmenyből készült narancslében

	LGG	Shirota	Reuteri	LA-5	L150	LC-01
LGG	-	0,793	0,236	0,283	0,005	1,000
Shirota	0,793	-	0,774	0,848	0,002	0,754
Reuteri	0,236	0,774	-	1,000	0,001	0,216
LA-5	0,283	0,848	1,000	-	0,001	0,259
L150	0,005	0,002	0,001	0,001	-	0,005
LC-01	1,000	0,754	0,216	0,259	0,005	-

M2.18. táblázat: Összes oldott szárazanyag-tartalom változás nem-sűrítmenyből készült narancslében a törzsselekcio során

<i>Lactobacillus</i>		Tárolási idő (hét)															
		0		1		2		3		4		5		6			
		24 °C		6 °C		24 °C		6 °C		24 °C		6 °C		24 °C		6 °C	
LGG	K	9,9	9,8	9,7	9,9	9,8	9,7	9,8	9,7	10,0	9,4	9,8	9,7	9,6			
	O	14,1	13,8	14,2	14,0	14,3	13,8	14,2	13,9	14,3	14,1	14,0	14,1	14,0			
Shirota	K	9,6	9,3	9,7	9,3	10,0	9,3	9,8	9,4	9,9	9,2	9,8	9,3	9,6			
	O	14,4	13,9	14,0	13,9	14,4	13,8	14,1	13,9	14,3	14,0	14,3	14,1	14,1			
Reuteri	K	9,7	9,4	9,6	9,3	9,6	9,3	9,6	9,1	9,4	9,3	9,7	9,2	9,4			
	O	14,1	13,9	14,2	13,6	14,0	13,4	14,3	13,8	14,2	13,9	14,5	13,7	14,1			
LA-5	K	9,5	9,4	9,6	9,1	9,5	9,1	9,1	9,2	9,5	9,2	9,5	9,3	9,4			
	O	14,4	14,1	14,4	13,7	14,2	14,0	14,1	13,8	14,3	12,5	14,4	9,7	14,2			
L150	K	9,8	9,4	9,6	9,2	9,6	9,2	9,7	9,2	9,7	9,4	9,7	9,1	9,3			
	O	14,5	14,3	14,6	13,6	14,6	13,9	14,5	10,1	14,4	10,2	14,5	10,2	14,4			
LC-01	K	9,5	9,7	9,6	9,5	9,8	8,2	9,9	9,6	10,0	9,4	9,8	9,6	9,9			
	O	14,2	13,6	14,4	14,3	14,6	14,0	14,4	13,9	14,6	13,9	14,6	14,0	14,6			

K: kontroll, O: optimalizált (pH=7, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

M2.19. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes oldott szárazanyag-tartalomra az optimalizált, nem-sűrítmenyből készült narancslében

	LGG	Shirota	Reuteri	LA-5	L150	LC-01
LGG	-	0,791	1,000	0,870	0,609	0,992
Shirota	0,791	-	0,791	1,000	0,999	0,971
Reuteri	1,000	0,791	-	0,870	0,609	0,992
LA-5	0,870	1,000	0,870	-	0,992	0,992
L150	0,609	0,999	0,609	0,992	-	0,870
LC-01	0,992	0,971	0,992	0,992	0,870	-

M2.20. táblázat: Titrálható savtartalom változás nem-sűrítvényből készült narancslében a törzsszelekció során (tejsavra (m/V%))

Lactobacillus		Tárolási idő (hét)													
		0		1		2		3		4		5		6	
		24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C		
LGG	K	1,180	1,261	1,189	1,549	1,279	1,982	1,450	1,703	1,225	1,766	1,180	1,919	1,135	
	O	0,865	1,721	1,108	2,315	1,297	2,955	1,666	2,576	1,369	2,675	1,459	2,720	1,576	
Shirota	K	1,378	1,585	1,243	1,820	1,369	1,874	1,549	1,694	1,180	1,739	1,225	1,666	1,234	
	O	0,901	1,694	1,009	2,027	1,279	2,243	1,567	1,982	1,369	1,928	1,441	1,910	1,450	
Reuteri	K	1,081	1,621	1,180	1,721	1,185	1,955	1,207	2,486	1,459	2,054	1,315	1,757	0,910	
	O	0,901	2,000	1,180	1,883	1,099	1,721	1,090	2,279	1,324	1,883	1,243	1,504	0,928	
LA-5	K	1,099	1,567	1,288	1,639	1,126	1,838	1,171	2,432	1,459	1,991	1,234	2,099	0,838	
	O	0,928	1,558	1,189	1,612	0,842	1,675	1,112	2,072	1,360	1,937	1,162	1,829	1,027	
L150	K	1,027	1,549	1,162	1,648	1,085	1,775	0,973	1,964	1,117	1,928	1,144	1,964	0,865	
	O	0,455	1,531	0,694	1,666	0,586	1,703	0,644	2,522	0,802	2,099	0,784	2,018	0,531	
LC-01	K	1,162	1,144	1,153	1,405	1,342	1,171	1,441	1,513	1,135	1,603	1,216	1,748	1,180	
	O	0,730	1,766	0,928	2,360	1,036	2,720	1,063	2,567	1,027	2,576	0,982	2,612	1,171	

K: kontroll, O: optimalizált (pH=7, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

M2.21. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő titrálható savtartalomra az optimalizált, nem-sűrítvényből készült narancslében

	LGG	Shirota	Reuteri	LA-5	L150	LC-01
LGG	-	0,407	0,407	0,074	0,000	0,002
Shirota	0,407	-	1,000	0,652	0,000	0,001
Reuteri	0,407	1,000	-	0,652	0,000	0,001
LA-5	0,074	0,652	0,652	-	0,000	0,000
L150	0,000	0,000	0,000	0,000	-	0,000
LC-01	0,002	0,001	0,001	0,000	0,000	-

M2.22. táblázat: Lactobacillus sejtszám (log TKE/ml) változás frissen facsart narancslében a törzsszelekció során

Lactobacillus		Tárolási idő (hét)													
		0		1		2		3		4		5		6	
		24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C		
LGG	K	n.a.	7,456	n.a.	n.a.	4,957	n.a.	4,932	n.a.	4,870	7,309	4,550	n.a.	4,279	
	O	9,233	9,195	9,287	8,544	8,951	8,062	8,804	7,499	8,126	6,602	7,044	5,130	6,934	
Shirota	K	7,347	8,366	7,377	8,227	7,282	7,348	7,291	8,097	7,330	7,326	7,308	6,910	7,198	
	O	9,461	8,760	9,245	7,583	9,133	n.a.	9,171	3,919	8,907	n.a.	8,537	n.a.	8,018	
Reuteri	K	6,699	7,823	5,699	8,502	3,885	8,313	3,318	7,785	n.a.	5,849	5,932	5,407	6,210	
	O	7,676	8,050	6,533	8,304	4,727	7,735	4,409	7,685	4,520	7,345	4,441	7,120	4,423	
LA-5	K	n.a.	7,394	8,076	8,301	n.a.	7,499	n.a.	7,761	n.a.	6,301	n.a.	6,568	n.a.	
	O	6,889	8,819	n.a.	8,789	7,578	8,331	7,636	8,546	7,797	8,314	7,892	8,401	7,421	
L150	K	7,748	7,955	7,660	8,120	7,909	7,993	7,542	7,849	7,741	7,713	8,091	8,507	n.a.	
	O	8,319	8,544	8,521	8,562	8,564	8,036	8,325	8,189	8,577	7,835	8,527	7,574	8,523	
LC-01	K	8,215	8,657	8,315	8,527	7,939	8,171	7,716	7,701	7,151	7,614	7,923	6,124	8,067	
	O	9,477	9,237	9,493	8,867	9,348	8,421	8,923	8,247	9,170	8,159	8,258	6,345	7,661	

K: kontroll, O: optimalizált (pH=7, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

M2.23. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő sejtszámra az optimalizált, frissen facsart narancslében

	LGG	Shirota	Reuteri	LA-5	L150	LC-01
LGG	-	0,003	0,000	0,000	0,001	0,004
Shirota	0,003	-	0,000	0,000	0,000	1,000
Reuteri	0,000	0,000	-	1,000	0,993	0,000
LA-5	0,000	0,000	1,000	-	0,983	0,000
L150	0,001	0,000	0,993	0,983	-	0,000
LC-01	0,004	1,000	0,000	0,000	0,000	-

M2.24. táblázat: pH változás frissen facsart narancslében a törzsszelekció során

<i>Lactobacillus</i>		Tárolási idő (hét)												
		0		1		2		3		4		5		6
		24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	
LGG	K	3,00	2,95	2,88	2,87	3,16	2,91	3,55	2,79	3,07	2,86	3,18	2,92	3,36
	O	3,86	3,34	3,55	3,24	3,90	3,31	4,06	3,19	3,64	3,23	3,74	3,29	3,88
Shirota	K	2,96	2,96	2,81	2,70	3,42	2,76	3,26	2,68	2,86	2,75	3,51	2,87	3,50
	O	3,98	3,89	3,78	3,34	4,08	3,43	3,94	3,39	3,65	3,41	4,09	3,46	3,99
Reuteri	K	3,00	2,87	2,87	2,97	3,57	2,88	3,17	2,81	2,98	2,90	3,32	3,01	3,14
	O	5,03	4,48	4,80	3,93	5,45	3,72	5,04	3,58	4,95	3,69	5,15	3,73	5,12
LA-5	K	3,25	2,96	3,17	3,02	3,33	3,13	3,58	3,13	3,28	3,15	3,29	3,30	3,25
	O	5,13	3,29	5,17	3,28	5,09	3,30	5,21	3,26	5,00	3,40	4,96	3,18	4,98
L150	K	3,65	2,75	3,65	2,85	3,08	2,95	3,69	2,86	3,10	2,81	3,51	3,22	3,13
	O	4,56	3,35	4,29	3,44	3,78	3,53	4,15	3,38	3,75	3,33	3,94	3,66	3,73
LC-01	K	3,09	2,76	3,41	3,28	3,37	2,88	3,19	3,01	2,96	2,73	3,18	3,03	3,04
	O	3,99	3,18	3,83	3,83	3,67	3,31	3,56	3,60	3,45	3,22	3,59	3,43	3,50

K: kontroll, O: optimalizált (pH=7, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

M2.25. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő pH-ra az optimalizált, frissen facsart narancslében

	LGG	Shirota	Reuteri	LA-5	L150	LC-01
LGG	-	0,864	0,000	0,000	0,005	0,826
Shirota	0,864	-	0,001	0,000	0,013	1,000
Reuteri	0,000	0,001	-	0,940	0,035	0,001
LA-5	0,000	0,000	0,940	-	0,015	0,000
L150	0,005	0,013	0,035	0,015	-	0,014
LC-01	0,826	1,000	0,001	0,000	0,014	-

M2.26. táblázat: Összes oldott szárazanyag-tartalom változás frissen facsart narancslében a törzsszelekció során

<i>Lactobacillus</i>		Tárolási idő (hét)													
		0		1		2		3		4		5		6	
		24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C		
LGG	K	11,0	10,6	10,7	12,0	10,8	8,3	11,0	7,8	10,8	7,0	10,3	6,5	10,9	
	O	15,3	14,9	15,2	14,7	14,9	14,8	15,0	14,5	15,1	13,7	13,6	13,7	14,7	
Shirota	K	10,9	10,2	10,9	9,5	10,8	8,2	10,8	7,6	10,9	6,8	10,6	5,9	10,7	
	O	14,9	15,1	15,1	14,8	15,1	14,5	15,1	14,9	15,3	14,0	14,6	13,9	14,7	
Reuteri	K	11,1	10,7	11,0	9,7	10,9	9,1	10,8	8,9	10,9	8,6	10,3	8,2	10,9	
	O	16,0	15,4	15,5	14,9	15,9	14,8	15,7	14,7	15,9	14,4	15,3	13,9	15,1	
LA-5	K	11,0	10,1	10,9	9,1	10,9	7,5	10,8	6,0	10,7	4,8	10,2	4,1	10,7	
	O	15,7	14,0	15,2	14,0	15,0	13,3	15,0	13,3	14,6	12,7	13,7	11,9	14,2	
L150	K	10,9	10,3	10,7	9,7	10,6	8,8	10,8	7,8	10,4	7,3	10,3	5,7	10,3	
	O	15,7	15,0	15,3	14,0	15,3	13,4	15,3	13,3	15,0	12,5	14,8	12,6	15,0	
LC-01	K	10,9	10,3	10,7	9,8	10,7	8,9	10,8	8,5	10,4	6,7	10,2	7,1	10,4	
	O	15,8	14,9	15,4	14,8	15,5	14,2	15,2	14,0	15,2	13,3	15,0	13,7	15,0	

K: kontroll, O: optimalizált (pH=7, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

M2.27. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes oldott szárazanyag-tartalomra az optimalizált, frissen facsart narancslében

	LGG	Shirota	Reuteri	LA-5	L150	LC-01
LGG	-	0,800	0,522	0,860	0,911	0,732
Shirota	0,800	-	0,137	0,297	0,344	0,219
Reuteri	0,522	0,137	-	0,976	0,950	0,997
LA-5	0,860	0,297	0,976	-	1,000	1,000
L150	0,911	0,344	0,950	1,000	-	0,997
LC-01	0,732	0,219	0,997	1,000	0,997	-

M2.28. táblázat: Titrálható savtartalom változás frissen facsart narancslében a törzsszelekció során (tejsavra (m/V%))

<i>Lactobacillus</i>		Tárolási idő (hét)													
		0		1		2		3		4		5		6	
		24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C	24 °C	6 °C		
LGG	K	1,703	1,639	1,387	1,874	1,540	1,910	1,414	2,018	1,459	1,766	1,324	2,090	1,937	
	O	1,486	2,297	1,378	2,558	1,549	2,585	1,333	2,838	1,504	2,405	1,297	2,928	1,802	
Shirota	K	1,829	2,081	1,522	2,396	1,657	2,847	1,477	2,423	1,540	2,153	1,342	2,648	2,000	
	O	1,423	1,964	1,153	2,099	1,432	2,396	1,324	2,108	1,423	1,793	1,261	2,513	1,838	
Reuteri	K	1,621	1,531	1,378	1,892	1,495	1,883	1,378	1,910	1,405	1,657	1,225	2,072	1,712	
	O	0,568	0,730	0,459	1,315	0,540	1,405	0,459	1,603	0,522	1,414	0,423	1,811	0,685	
LA-5	K	1,099	1,117	0,874	1,387	1,063	1,369	0,856	1,522	1,045	1,522	0,955	1,712	1,099	
	O	0,468	1,468	0,459	2,279	0,441	2,225	0,414	2,720	0,495	2,675	0,450	2,648	0,540	
L150	K	1,153	1,333	0,946	1,748	1,216	1,730	1,153	2,072	1,342	1,946	1,126	2,486	1,261	
	O	0,658	1,225	0,712	1,703	0,901	1,811	0,973	2,009	1,108	1,766	1,081	2,419	1,216	
LC-01	K	1,171	1,369	0,964	1,955	1,198	2,036	1,225	2,414	1,324	2,288	1,189	2,549	1,378	
	O	0,955	1,675	1,036	2,144	1,369	2,243	1,360	2,396	1,441	2,288	1,414	2,324	1,432	

K: kontroll, O: optimalizált (pH=7, 2 g/l élesztőkivonat, 60 g/l dextróz)

M2.29. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő titrálható savtartalomra az optimalizált, frissen facsart narancslében

	LGG	Shirota	Reuteri	LA-5	L150	LC-01
LGG	-	0,845	0,000	0,000	0,000	0,001
Shirota	0,845	-	0,000	0,000	0,000	0,001
Reuteri	0,000	0,000	-	0,522	0,604	0,003
LA-5	0,000	0,000	0,522	-	0,088	0,001
L150	0,000	0,000	0,604	0,088	-	0,012
LC-01	0,001	0,001	0,003	0,001	0,012	-

M3. Meggylé eredmények

M3.1. táblázat: pH változás az eredeti (natív) meggylében a fermentáció során

Meggly	<i>Lactobacillus</i>	Inkubációs idő		
		0 h	24 h	48 h
Újfehértói fűrtös	Ø (kontroll)	3,21	3,23	3,33
	LGG	3,21	3,24	3,37
	D13	3,21	3,24	3,36
	L150	3,21	3,24	3,37
Petri	Ø (kontroll)	3,40	3,38	3,39
	LGG	3,40	3,38	3,40
	D13	3,40	3,39	3,41
	L150	3,40	3,37	3,38

M3.2. táblázat: Központi elrendezésű kísérlettervezés a meggylé pasztörözés (idő és hőmérséklet) optimalizációjára, az összcsíraszámot (log TKE/ml), mint függő változót alkalmazva

	Független változó (faktor)		Mért paraméter (válasz)
	Idő (perc)	Hőmérséklet (°C)	Sejtszám (log TKE/ml)
1	6,0	60,0	2,820
2	40,0	60,0	2,826
3	6,0	80,0	2,690
4	40,0	80,0	2,114
5	23,0	55,9	2,806
6	23,0	84,1	1,000
7	0,0	70,0	2,940
8	47,0	70,0	2,602
9	23,0	70,0	2,699
10	23,0	70,0	2,699

M3.3. táblázat: pH változás a pH állított meggylében a fermentáció során

Meggly	<i>Lactobacillus</i>	Inkubációs idő		
		0 h	24 h	48 h
Újfehértói fűrtös	Ø (kontroll)	6,95	6,90	6,88
	LGG	6,95	5,91	7,16
	D13	6,95	6,20	6,04
	L150	6,95	6,27	6,14
Petri	Ø (kontroll)	7,00	6,02	6,47
	LGG	7,00	5,41	5,25
	D13	7,00	6,25	6,27
	L150	7,00	6,37	6,94

M3.4. táblázat: Központi elrendezésű kísérlettervezés a pH és az adaptáció (meggylé : MRS arány (V/V)) optimalizációjára, a *L. rhamnosus* GG sejt számot (log TKE/ml), mint függő változót alkalmazva

	Független változó (faktor)		Mért paraméterek (válasz)	
	pH	Adaptáció	pH	Sejtszám (log TKE/ml)
1	3,20	2 : 8	3,23	4,903
2	3,20	5 : 5	3,19	n.a.
3	6,00	2 : 8	6,45	7,914
4	6,00	5 : 5	6,46	8,265
5	2,62	3,5 : 6,5	2,52	n.a.
6	6,58	3,5 : 6,5	6,44	8,083
7	4,60	1,38 : 8,62	5,20	7,951
8	4,60	5,62 : 4,32	5,43	8,027
9	4,60	3,5 : 6,5	5,64	7,918
10	4,60	3,5 : 6,5	5,23	8,079

M3.5. táblázat: Központi elrendezésű kísérlettervezés az élesztőkivonat koncentráció (g/l) és a hígítás (meggylé : víz arány (V/V)) optimalizációjára, a *L. rhamnosus* GG sejt számot (log TKE/ml), mint függő változót alkalmazva

	Független változó (faktor)		Mért paraméterek (válasz)	
	Élesztőkivonat (g/l)	Hígítás	pH	Sejtszám (log TKE/ml)
1	1,00	3 : 7	4,00	9,573
2	1,00	9 : 1	4,92	9,041
3	5,00	3 : 7	3,97	9,649
4	5,00	9 : 1	4,42	9,598
5	0,17	6 : 4	4,90	9,608
6	5,83	6 : 4	4,22	9,228
7	3,00	1,76 : 8,34	3,76	8,993
8	3,00	10 : 0	4,59	9,263
9	3,00	6 : 4	4,26	10,003
10	3,00	6 : 4	4,29	9,796

M3.6. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő sejtszámra az Újfehértói fűrtös meggylében

	LGG	L150	LA-5	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	1,000	0,868	1,000	0,995	0,989	0,093	0,095	0,999
L150	1,000	-	0,982	0,999	0,931	0,897	0,028	0,028	1,000
LA-5	0,868	0,982	-	0,731	0,333	0,276	0,001	0,001	0,997
Reuteri	1,000	0,999	0,731	-	1,000	0,999	0,170	0,174	0,992
Shirota	0,995	0,931	0,333	1,000	-	1,000	0,497	0,511	0,851
LC-01	0,989	0,897	0,276	0,999	1,000	-	0,567	0,581	0,799
2142	0,093	0,028	0,001	0,170	0,497	0,567	-	1,000	0,016
N2	0,095	0,028	0,001	0,174	0,511	0,581	1,000	-	0,016
DT41	0,999	1,000	0,997	0,992	0,851	0,799	0,016	0,016	-

M3.7. táblázat: pH, titrálható savtartalom (TA) (tejsavra (m/V%)) és összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) (%) változás és az összes oldott szárazanyag-tartalom és titrálható savtartalom arányának (TSS/TA) alakulása a fermentáció során az Újfehértói fűrtös meggylében

<i>Lactobacillus</i>	pH	TA	TSS	TSS/TA
Ø (0 h)	5,79	0,1743	11,6	66,55
LGG	4,21	0,8528	10,1	11,80
L150	4,41	0,5585	10,3	18,44
LA-5	4,37	0,5044	10,3	20,42
Reuteri	4,28	0,6426	10,1	13,07
2142	4,41	0,9548	10,2	23,63
Shirota	4,32	0,7807	10,2	15,77
LC-01	4,56	0,4444	10,5	10,68
N2	4,54	0,4444	10,6	23,78
DT41	4,37	0,6125	10,2	18,20

M3.8. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő pH-ra az Újfehértói fűrtös meggylében

	LGG	L150	LA-5	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,000	0,001	0,513	0,062	0,000	0,000	0,000	0,002
L150	0,000	-	0,968	0,011	0,139	0,002	1,000	0,008	0,914
LA-5	0,001	0,968	-	0,093	0,645	0,000	0,945	0,001	1,000
Reuteri	0,513	0,011	0,093	-	0,914	0,000	0,008	0,000	0,139
Shirota	0,062	0,139	0,645	0,914	-	0,000	0,114	0,000	0,771
LC-01	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000	-	0,003	0,999	0,000
2142	0,000	1,000	0,945	0,008	0,114	0,003	-	0,011	0,874
N2	0,000	0,008	0,001	0,000	0,000	0,999	0,011	-	0,001
DT41	0,002	0,914	1,000	0,139	0,771	0,000	0,874	0,001	-

M3.9. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes oldott szárazanyag-tartalomra az Újfehértói fűrtös meggylében

	LGG	L150	LA-5	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,136	0,136	0,993	0,741	0,001	0,741	0,000	0,927
L150	0,136	-	1,000	0,490	0,927	0,274	0,927	0,062	0,741
LA-5	0,136	1,000	-	0,490	0,927	0,274	0,927	0,062	0,741
Reuteri	0,993	0,490	0,490	-	0,993	0,005	0,993	0,001	1,000
Shirota	0,741	0,927	0,927	0,993	-	0,027	1,000	0,005	1,000
LC-01	0,001	0,274	0,274	0,005	0,027	-	0,027	0,993	0,011
2142	0,741	0,927	0,927	0,993	1,000	0,027	-	0,005	1,000
N2	0,000	0,062	0,062	0,001	0,005	0,993	0,005	-	0,002
DT41	0,927	0,741	0,741	1,000	1,000	0,011	1,000	0,002	-

M3.10. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő titrálható savtartalomra az Újfehértói fűrtös meggyében

	LGG	L150	LA-5	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,001	0,000	0,022	0,904	0,000	0,620	0,000	0,007
L150	0,001	-	0,980	0,810	0,014	0,486	0,000	0,486	0,980
LA-5	0,000	0,980	-	0,262	0,002	0,963	0,000	0,963	0,553
Reuteri	0,022	0,810	0,262	-	0,262	0,034	0,000	0,034	1,000
Shirota	0,904	0,014	0,002	0,262	-	0,000	0,082	0,000	0,101
LC-01	0,000	0,486	0,963	0,034	0,000	-	0,000	1,000	0,101
2142	0,620	0,000	0,000	0,000	0,082	0,000	-	0,000	0,000
N2	0,000	0,486	0,963	0,034	0,000	1,000	0,000	-	0,101
DT41	0,007	0,980	0,553	1,000	0,101	0,101	0,000	0,101	-

M3.11. táblázat: Összes polifenol tartalom (mg GAE/kg), antioxidáns kapacitás (FRAP) (mM Fe(II)/kg) és szabad gyökfogó kapacitás (DPPH) (mMTr/kg) változás a fermentáció során az Újfehértói fűrtös meggyében

<i>Lactobacillus</i>	Összpolifenol	FRAP	DPPH
Ø (0 h)	551,56	6,29	2,61
LGG	557,79	6,29	2,78
L150	706,45	6,44	3,69
LA-5	583,65	6,46	3,27
Shirota	573,35	6,57	3,36
LC-01	504,54	6,22	3,29
Reuteri	569,05	6,21	3,66
2142	558,63	6,24	3,50
N2	448,91	6,28	3,02
DT41	666,56	6,36	3,61

M3.12. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes polifenol tartalomra az Újfehértói fűrtös meggyében

	LGG	L150	LA-5	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,257	1,000	1,000	1,000	0,988	1,000	0,624	0,626
L150	0,257	-	0,480	0,344	0,381	0,049	0,262	0,007	0,998
LA-5	1,000	0,480	-	1,000	1,000	0,892	1,000	0,367	0,866
Reuteri	1,000	0,344	1,000	-	1,000	0,963	1,000	0,507	0,741
Shirota	1,000	0,381	1,000	1,000	-	0,947	1,000	0,464	0,781
LC-01	0,988	0,049	0,892	0,963	0,947	-	0,987	0,984	0,176
2142	1,000	0,262	1,000	1,000	1,000	0,987	-	0,616	0,634
N2	0,624	0,007	0,367	0,507	0,464	0,984	0,616	-	0,028
DT41	0,626	0,998	0,866	0,741	0,781	0,176	0,634	0,028	-

M3.13. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő antioxidáns kapacitásra (FRAP) az Újfehértói fürtös meggyében

	LGG	L150	LA-5	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,994	0,988	1,000	0,821	1,000	1,000	1,000	1,000
L150	0,994	-	1,000	0,932	0,998	0,953	0,973	0,993	1,000
LA-5	0,988	1,000	-	0,902	0,999	0,930	0,957	0,987	1,000
Reuteri	1,000	0,932	0,902	-	0,580	1,000	1,000	1,000	0,996
Shirota	0,821	0,998	0,999	0,580	-	0,633	0,697	0,811	0,952
LC-01	1,000	0,953	0,930	1,000	0,633	-	1,000	1,000	0,998
2142	1,000	0,973	0,957	1,000	0,697	1,000	-	1,000	0,999
N2	1,000	0,993	0,987	1,000	0,811	1,000	1,000	-	1,000
DT41	1,000	1,000	1,000	0,996	0,952	0,998	0,999	1,000	-

M3.14. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő szabad gyökfogó kapacitásra (DPPH) az Újfehértói fürtös meggyében

	LGG	L150	LA-5	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,012	0,414	0,017	0,224	0,358	0,071	0,964	0,027
L150	0,012	-	0,587	1,000	0,823	0,652	0,991	0,108	1,000
LA-5	0,414	0,587	-	0,682	1,000	1,000	0,972	0,959	0,810
Reuteri	0,017	1,000	0,682	-	0,892	0,744	0,998	0,143	1,000
Shirota	0,224	0,823	1,000	0,892	-	1,000	0,999	0,813	0,958
LC-01	0,358	0,652	1,000	0,744	1,000	-	0,985	0,934	0,860
2142	0,071	0,991	0,972	0,998	0,999	0,985	-	0,440	1,000
N2	0,964	0,108	0,959	0,143	0,813	0,934	0,440	-	0,212
DT41	0,027	1,000	0,810	1,000	0,958	0,860	1,000	0,212	-

M3.15. táblázat: Fermentált meggylé antocián tartalma (1 g/ml koncentrációban mért integrált területek), $\lambda=520$ nm

<i>Lactobacillus</i>	1. cianidin származék integrált terület	2. cianidin származék integrált terület
eredeti meggylé	3181489 ± 162785	443175 ± 34699
Ø (0 h)	117268 ± 9986	13239 ± 1051
LGG	637722 ± 40245	54321 ± 332
L150	650213 ± 5173	55493 ± 2044
LA-5	612537 ± 12256	54643 ± 4820
Reuteri	633482 ± 5681	55051 ± 972
2142	652538 ± 1767	60801 ± 241
Shirota	661657 ± 27189	62386 ± 3281
LC-01	633266 ± 1428	59355 ± 2017
N2	594577 ± 2544	53256 ± 343
DT41	650631 ± 10159	56256 ± 1850

M3.16. táblázat: Fermentált meggylé polifenol tartalma (mg/l, rutin egyenértékben kifejezve), $\lambda=355$ nm

<i>Lactobacillus</i>	rutin (mg/l)	kvercetin származék (mg/l)
eredeti meggylé	2,11 ± 0,12	1,14 ± 0,05
Ø (0 h)	0,81 ± 0,06	0,59 ± 0,04
LGG	0,93 ± 0,01	0,43 ± 0,01
L150	0,94 ± 0,02	0,48 ± 0,03
LA-5	1,03 ± 0,07	0,44 ± 0,01
Reuteri	0,92 ± 0,04	0,48 ± 0,04
2142	1,04 ± 0,04	0,63 ± 0,05
Shirota	0,87 ± 0,00	0,44 ± 0,02
LC-01	0,93 ± 0,02	0,45 ± 0,02
N2	0,95 ± 0,06	0,38 ± 0,01
DT41	0,98 ± 0,10	0,43 ± 0,01

M3.17. táblázat: Fermentált meggylé polifenol tartalma (mg/l, rutin egyenértékben kifejezve), $\lambda=320$ nm

<i>Lactobacillus</i>	ismeretlen (mg/l)	neoklorogénsav (mg/l)	kumarinsav származék (mg/l)	klorogénsav (mg/l)	fahéjsav származék (mg/l)
eredeti meggylé	3,87 ± 0,37	345,43 ± 12,23	30,34 ± 1,31	48,80 ± 2,75	13,50 ± 0,88
Ø (0 h)	2,15 ± 0,22	104,20 ± 11,05	18,93 ± 0,05	14,22 ± 0,62	7,44 ± 0,82
LGG	2,37 ± 0,07	146,38 ± 4,51	17,50 ± 0,19	19,88 ± 0,46	18,99 ± 0,35
L150	2,44 ± 0,08	139,35 ± 1,54	16,78 ± 0,23	19,66 ± 0,74	20,30 ± 0,26
LA-5	2,28 ± 0,05	141,79 ± 0,06	17,80 ± 0,12	19,40 ± 0,22	19,00 ± 0,30
Reuteri	2,08 ± 0,10	141,18 ± 0,26	17,22 ± 0,38	19,27 ± 0,12	20,34 ± 0,35
2142	2,50 ± 0,06	147,15 ± 1,23	14,74 ± 0,07	12,61 ± 0,04	9,39 ± 0,11
Shirota	2,43 ± 0,17	139,46 ± 5,23	16,59 ± 0,64	19,79 ± 0,73	20,55 ± 0,87
LC-01	2,40 ± 0,04	137,85 ± 1,22	16,43 ± 0,05	19,57 ± 0,22	24,17 ± 0,23
N2	2,26 ± 0,03	134,78 ± 2,28	16,59 ± 0,89	19,18 ± 0,04	23,43 ± 0,79
DT41	2,62 ± 0,08	141,88 ± 0,19	16,87 ± 0,21	19,64 ± 0,24	20,45 ± 0,27

M3.18. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő sejtszámra a Petri meggylében

	LGG	L150	LA-5	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,000	0,000	0,420	0,713	0,947	0,997	1,000	0,999
L150	0,000	-	0,972	0,021	0,004	0,000	0,000	0,000	0,000
LA-5	0,000	0,972	-	0,325	0,111	0,026	0,006	0,000	0,004
Reuteri	0,420	0,021	0,325	-	1,000	0,986	0,878	0,256	0,822
Shirota	0,713	0,004	0,111	1,000	-	1,000	0,986	0,527	0,971
LC-01	0,947	0,000	0,026	0,986	1,000	-	1,000	0,856	1,000
2142	0,997	0,000	0,006	0,878	0,986	1,000	-	0,981	1,000
N2	1,000	0,000	0,000	0,256	0,527	0,856	0,981	-	0,994
DT41	0,999	0,000	0,004	0,822	0,971	1,000	1,000	0,994	-

M3.19. táblázat: pH, titrálható savtartalom (TA) (tejsavra (m/V%)) és összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) (%) változás és az összes oldott szárazanyag-tartalom és titrálható savtartalom arányának (TSS/TA) alakulása a fermentáció során a Petri meggyében

<i>Lactobacillus</i>	pH	TA	TSS	TSS/TA
Ø (0 h)	5,82	0,1341	10,3	76,81
LGG	4,22	0,7567	8,8	11,59
L150	4,41	0,4744	8,9	18,83
LA-5	4,43	0,4384	8,9	20,30
Reuteri	4,37	0,4804	9,0	18,80
2142	4,31	0,6666	9,0	13,45
Shirota	4,31	0,6005	9,1	15,21
LC-01	4,27	0,6005	9,2	15,26
N2	4,39	0,5285	9,1	17,22
DT41	4,35	0,5645	9,1	16,12

M3.20. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő pH-ra a Petri meggyében

	LGG	L150	LA-5	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,000	0,000	0,000	0,040	0,557	0,040	0,000	0,001
L150	0,000	-	0,999	0,790	0,014	0,000	0,014	0,995	0,335
LA-5	0,000	0,999	-	0,403	0,003	0,000	0,003	0,854	0,112
Reuteri	0,000	0,790	0,403	-	0,275	0,014	0,275	0,995	0,995
Shirota	0,040	0,014	0,003	0,275	-	0,790	1,000	0,068	0,716
LC-01	0,557	0,000	0,000	0,014	0,790	-	0,790	0,003	0,068
2142	0,040	0,014	0,003	0,275	1,000	0,790	-	0,068	0,716
N2	0,000	0,995	0,854	0,995	0,068	0,003	0,068	-	0,790
DT41	0,001	0,335	0,112	0,995	0,716	0,068	0,716	0,790	-

M3.21. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes oldott szárazanyag-tartalomra a Petri meggyében

	LGG	L150	LA-5	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,600	0,819	0,108	0,011	0,005	0,378	0,024	0,024
L150	0,600	-	1,000	0,955	0,378	0,211	1,000	0,600	0,600
LA-5	0,819	1,000	-	0,819	0,211	0,108	0,996	0,378	0,378
Reuteri	0,108	0,955	0,819	-	0,955	0,819	0,996	0,996	0,996
Shirota	0,011	0,378	0,211	0,955	-	1,000	0,600	1,000	1,000
LC-01	0,005	0,211	0,108	0,819	1,000	-	0,378	0,996	0,996
2142	0,378	1,000	0,996	0,996	0,600	0,378	-	0,819	0,819
N2	0,024	0,600	0,378	0,996	1,000	0,996	0,819	-	1,000
DT41	0,024	0,600	0,378	0,996	1,000	0,996	0,819	1,000	-

M3.22. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő titrálható savtartalomra a Petri meggyében

	LGG	L150	LA-5	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,000	0,000	0,000	0,017	0,017	0,377	0,000	0,003
L150	0,000	-	0,988	1,000	0,080	0,080	0,003	0,885	0,377
LA-5	0,000	0,988	-	0,969	0,013	0,013	0,000	0,377	0,080
Reuteri	0,000	1,000	0,969	-	0,107	0,107	0,003	0,936	0,461
Shirota	0,017	0,080	0,013	0,107	-	1,000	0,736	0,645	0,988
LC-01	0,017	0,080	0,013	0,107	1,000	-	0,736	0,645	0,988
2142	0,377	0,003	0,000	0,003	0,736	0,736	-	0,044	0,238
N2	0,000	0,885	0,377	0,936	0,645	0,645	0,044	-	0,988
DT41	0,003	0,377	0,080	0,461	0,988	0,988	0,238	0,988	-

M3.23. táblázat: Összes polifenol tartalom (mg GAE/kg), antioxidáns kapacitás (FRAP) (mM Fe(II)/kg) és szabad gyökfogó kapacitás (DPPH) (mMTr/kg) változás a fermentáció során a Petri meggyében

<i>Lactobacillus</i>	Összpolifenol	FRAP	DPPH
Ø (0 h)	416,67	4,66	2,13
LGG	515,33	5,00	3,16
L150	561,55	5,07	2,87
LA-5	565,86	5,04	2,83
Shirota	561,59	5,19	3,26
LC-01	468,89	5,41	2,16
Reuteri	394,29	5,44	2,38
2142	387,15	5,65	2,72
N2	578,19	5,08	1,95
DT41	655,01	5,35	2,67

M3.24. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes polifenol tartalomra a Petri meggyében

	LGG	L150	LA-5	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,901	0,851	0,046	0,901	0,899	0,031	0,658	0,015
L150	0,901	-	1,000	0,003	1,000	0,211	0,002	1,000	0,203
LA-5	0,851	1,000	-	0,002	1,000	0,171	0,001	1,000	0,248
Reuteri	0,046	0,003	0,002	-	0,003	0,454	1,000	0,001	0,000
Shirota	0,901	1,000	1,000	0,003	-	0,210	0,002	1,000	0,203
LC-01	0,899	0,211	0,171	0,454	0,210	-	0,344	0,089	0,001
2142	0,031	0,002	0,001	1,000	0,002	0,344	-	0,001	0,000
N2	0,658	1,000	1,000	0,001	1,000	0,089	0,001	-	0,418
DT41	0,015	0,203	0,248	0,000	0,203	0,001	0,000	0,418	-

M3.25. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő antioxidáns kapacitásra (FRAP) a Petri meggyében

	LGG	L150	LA-5	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	1,000	1,000	0,726	0,997	0,789	0,287	1,000	0,903
L150	1,000	-	1,000	0,860	1,000	0,905	0,418	1,000	0,970
LA-5	1,000	1,000	-	0,822	1,000	0,873	0,373	1,000	0,954
Reuteri	0,726	0,860	0,822	-	0,983	1,000	0,996	0,881	1,000
Shirota	0,997	1,000	1,000	0,983	-	0,993	0,700	1,000	0,999
LC-01	0,789	0,905	0,873	1,000	0,993	-	0,990	0,922	1,000
2142	0,287	0,418	0,373	0,996	0,700	0,990	-	0,446	0,954
N2	1,000	1,000	1,000	0,881	1,000	0,922	0,446	-	0,977
DT41	0,903	0,970	0,954	1,000	0,999	1,000	0,954	0,977	-

M3.26. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő szabad gyökfogyó kapacitásra (DPPH) a Petri meggyében

	LGG	L150	LA-5	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,864	0,760	0,023	1,000	0,002	0,448	0,000	0,302
L150	0,864	-	1,000	0,317	0,584	0,043	0,997	0,005	0,977
LA-5	0,760	1,000	-	0,425	0,458	0,065	1,000	0,008	0,995
Reuteri	0,023	0,317	0,425	-	0,008	0,960	0,737	0,453	0,877
Shirota	1,000	0,584	0,458	0,008	-	0,001	0,212	0,000	0,130
LC-01	0,002	0,043	0,065	0,960	0,001	-	0,170	0,975	0,271
2142	0,448	0,997	1,000	0,737	0,212	0,170	-	0,023	1,000
N2	0,000	0,005	0,008	0,453	0,000	0,975	0,023	-	0,041
DT41	0,302	0,977	0,995	0,877	0,130	0,271	1,000	0,041	-

M3.27. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a *L. acidophilus* LA-5 sejszámra az Érdi bőtermő meggyében a 8 hetes tárolás során

		Üvegpalack	Műanyag palack	Tetra Pak
1. hét	Üvegpalack	-	0,216	0,941
	Műanyag palack	0,216	-	0,348
	Tetra Pak	0,941	0,348	-
2. hét	Üvegpalack	-	0,855	0,104
	Műanyag palack	0,855	-	0,034
	Tetra Pak	0,104	0,034	-
4. hét	Üvegpalack	-	0,920	0,909
	Műanyag palack	0,920	-	0,709
	Tetra Pak	0,909	0,709	-
6. hét	Üvegpalack	-	0,802	0,704
	Műanyag palack	0,802	-	0,951
	Tetra Pak	0,704	0,951	-
8. hét	Üvegpalack	-	0,156	1,000
	Műanyag palack	0,156	-	0,236
	Tetra Pak	1,000	0,236	-

M3.28. táblázat: pH, összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) (%) és titrálható savtartalom (TA) (tejsavra (m/V%)) változása a tárolás során az Érdi bőtermő meggyében

	Tároló	0. hét	1. hét	2. hét	4. hét	6. hét	8. hét
pH	Üveg	4,28	4,23	4,14	4,10	4,10	4,03
	Műanyag	4,28	4,24	4,14	4,10	4,11	4,06
	Tetra Pak	4,28	4,23	4,15	4,09	4,08	4,04
TSS	Üveg	8,90	8,95	8,75	8,05	7,25	7,20
	Műanyag	8,90	8,75	8,75	8,30	7,60	7,55
	Tetra Pak	8,90	8,90	8,80	7,75	7,05	6,85
TA	Üveg	1,0218	1,2341	1,2251	1,5764	1,5944	1,6034
	Műanyag	1,0810	1,2341	1,2431	1,3827	1,6034	1,5854
	Tetra Pak	1,0810	1,1891	1,1800	1,4773	1,7205	1,5944

M3.29. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a pH-ra az Érdi bőtermő meggyében a 8 hetes tárolás során

		Üvegpalack	Műanyag palack	Tetra Pak
1. hét	Üvegpalack	-	0,439	1,000
	Műanyag palack	0,439	-	0,439
	Tetra Pak	1,000	0,439	-
2. hét	Üvegpalack	-	1,000	0,406
	Műanyag palack	1,000	-	0,406
	Tetra Pak	0,406	0,406	-
4. hét	Üvegpalack	-	0,518	0,518
	Műanyag palack	0,518	-	0,175
	Tetra Pak	0,518	0,175	-
6. hét	Üvegpalack	-	0,855	0,219
	Műanyag palack	0,855	-	0,138
	Tetra Pak	0,219	0,138	-
8. hét	Üvegpalack	-	0,069	0,518
	Műanyag palack	0,069	-	0,175
	Tetra Pak	0,518	0,175	-

M3.30. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt az összes oldott szárazanyag-tartalom az Érdi bőtermő meggyében a 8 hetes tárolás során

		Üvegpalack	Műanyag palack	Tetra Pak
1. hét	Üvegpalack	-	0,080	0,695
	Műanyag palack	0,080	-	0,155
	Tetra Pak	0,695	0,155	-
2. hét	Üvegpalack	-	1,000	0,923
	Műanyag palack	1,000	-	0,923
	Tetra Pak	0,923	0,923	-
4. hét	Üvegpalack	-	0,046	0,028
	Műanyag palack	0,046	-	0,005
	Tetra Pak	0,028	0,005	-
6. hét	Üvegpalack	-	0,476	0,752
	Műanyag palack	0,476	-	0,241
	Tetra Pak	0,752	0,241	-
8. hét	Üvegpalack	-	0,007	0,011
	Műanyag palack	0,007	-	0,001
	Tetra Pak	0,011	0,001	-

M3.31. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a titrálható savtartalomra az Érdi bőtermő meggyében a 8 hetes tárolás során

		Üvegpalack	Műanyag palack	Tetra Pak
1. hét	Üvegpalack	-	1,000	0,359
	Műanyag palack	1,000	-	0,359
	Tetra Pak	0,359	0,359	-
2. hét	Üvegpalack	-	0,175	0,018
	Műanyag palack	0,175	-	0,007
	Tetra Pak	0,018	0,007	-
4. hét	Üvegpalack	-	0,327	0,682
	Műanyag palack	0,327	-	0,703
	Tetra Pak	0,682	0,703	-
6. hét	Üvegpalack	-	0,998	0,676
	Műanyag palack	0,998	-	0,710
	Tetra Pak	0,676	0,710	-
8. hét	Üvegpalack	-	0,861	0,962
	Műanyag palack	0,861	-	0,962
	Tetra Pak	0,962	0,962	-

M3.32. táblázat: Összes polifenol tartalom (mg GAE/kg), antioxidáns kapacitás (FRAP) (mM Fe(II)/kg) és szabad gyökfogó kapacitás (DPPH) (mMTr/kg) változás a tárolás során a Érdi bőtermő meggyében

	Tároló	0 óra	24 óra	1. hét	2. hét	4. hét	6. hét	8. hét
Polifenol	Üveg	580,13	543,19	520,66	535,25	526,59	536,68	595,88
	Műanyag	580,13	543,19	523,94	514,96	561,35	553,93	593,00
	Tetra Pak	580,13	543,19	505,18	480,50	514,00	496,64	492,75
FRAP	Üveg	5,33	5,48	5,31	5,57	5,39	5,42	5,30
	Műanyag	5,33	5,48	5,34	5,01	5,68	5,41	5,20
	Tetra Pak	5,33	5,48	5,32	5,11	5,18	5,13	4,56
DPPH	Üveg	1,79	1,95	1,98	2,07	2,13	2,24	2,14
	Műanyag	1,79	1,95	1,95	1,82	2,13	2,09	1,88
	Tetra Pak	1,79	1,95	1,83	1,64	1,75	2,03	1,49

M3.33. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt az összes polifenol-tartalomra az Érdi bőtermő meggyében a 8 hetes tárolás során

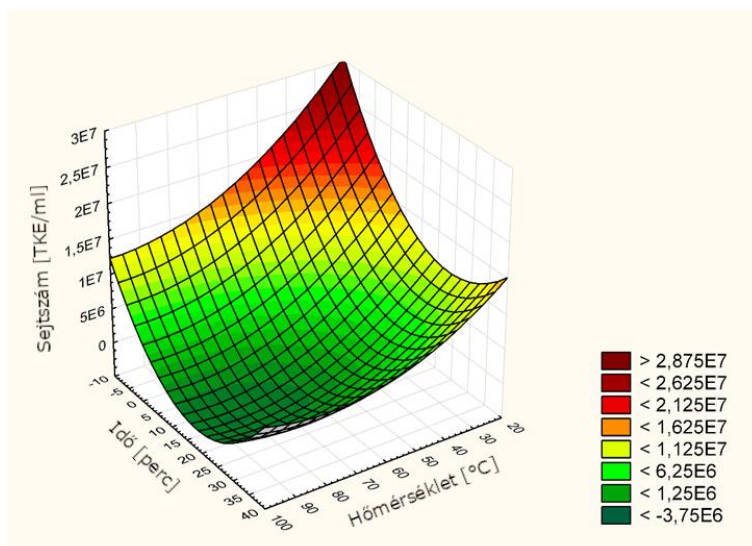
		Üvegpalack	Műanyag palack	Tetra Pak
1. hét	Üvegpalack	-	0,973	0,598
	Műanyag palack	0,973	-	0,494
	Tetra Pak	0,598	0,494	-
2. hét	Üvegpalack	-	0,443	0,064
	Műanyag palack	0,443	-	0,186
	Tetra Pak	0,064	0,186	-
4. hét	Üvegpalack	-	0,067	0,466
	Műanyag palack	0,067	-	0,030
	Tetra Pak	0,466	0,030	-
6. hét	Üvegpalack	-	0,645	0,211
	Műanyag palack	0,645	-	0,097
	Tetra Pak	0,211	0,097	-
8. hét	Üvegpalack	-	0,973	0,035
	Műanyag palack	0,973	-	0,031
	Tetra Pak	0,035	0,031	-

M3.34. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt az antioxidáns kapacitásra (FRAP) az Érdi bőtermő meggyében a 8 hetes tárolás során

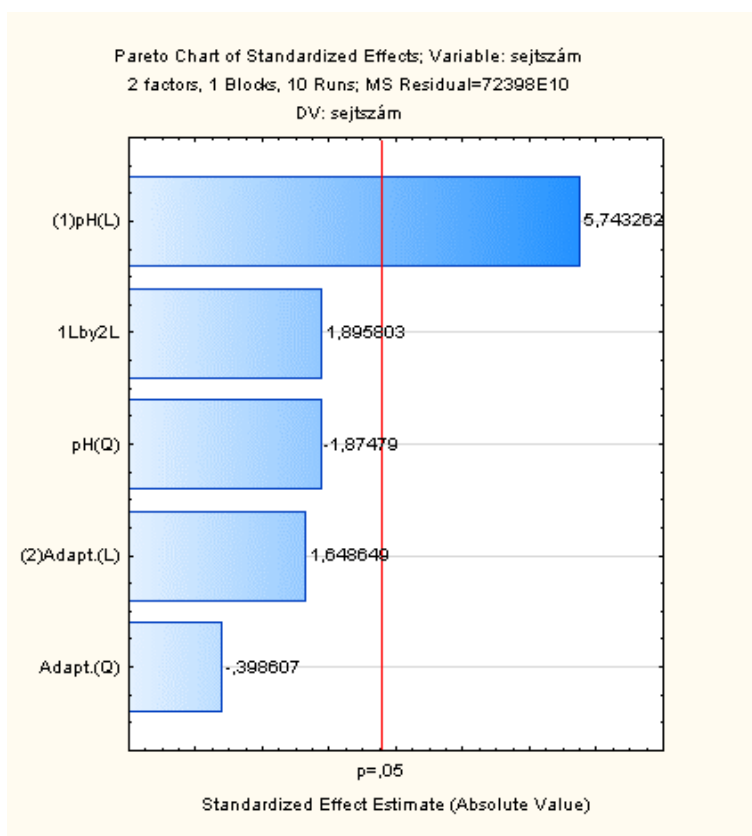
		Üvegpalack	Műanyag palack	Tetra Pak
1. hét	Üvegpalack	-	0,975	0,998
	Műanyag palack	0,975	-	0,986
	Tetra Pak	0,998	0,986	-
2. hét	Üvegpalack	-	1,000	0,520
	Műanyag palack	1,000	-	0,519
	Tetra Pak	0,520	0,519	-
4. hét	Üvegpalack	-	0,294	0,454
	Műanyag palack	0,294	-	0,095
	Tetra Pak	0,454	0,095	-
6. hét	Üvegpalack	-	0,999	0,567
	Műanyag palack	0,999	-	0,590
	Tetra Pak	0,567	0,590	-
8. hét	Üvegpalack	-	0,978	0,410
	Műanyag palack	0,978	-	0,491
	Tetra Pak	0,410	0,491	-

M3.35. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a győfogó kapacitásra (DPPH) az Érdi bőtermő meggyében a 8 hetes tárolás során

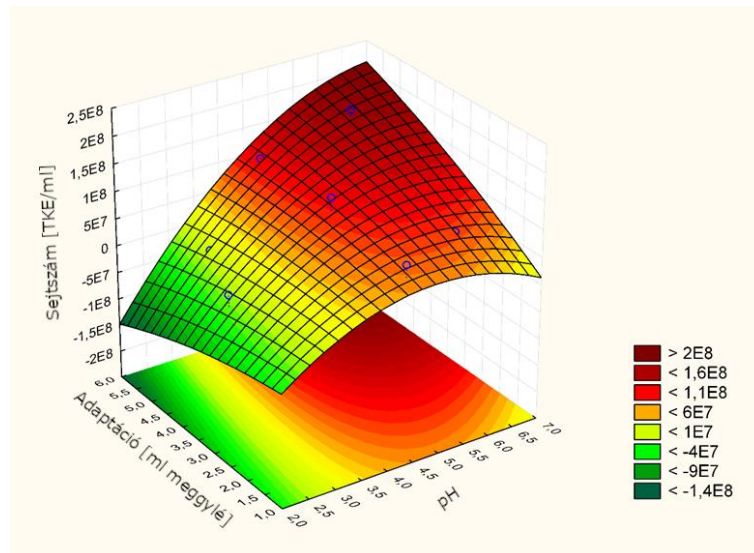
		Üvegpalack	Műanyag palack	Tetra Pak
1. hét	Üvegpalack	-	0,917	0,178
	Műanyag palack	0,917	-	0,252
	Tetra Pak	0,178	0,252	-
2. hét	Üvegpalack	-	0,516	0,238
	Műanyag palack	0,516	-	0,697
	Tetra Pak	0,238	0,697	-
4. hét	Üvegpalack	-	0,999	0,082
	Műanyag palack	0,999	-	0,081
	Tetra Pak	0,082	0,081	-
6. hét	Üvegpalack	-	0,792	0,655
	Műanyag palack	0,792	-	0,962
	Tetra Pak	0,655	0,962	-
8. hét	Üvegpalack	-	0,650	0,188
	Műanyag palack	0,650	-	0,438
	Tetra Pak	0,188	0,438	-



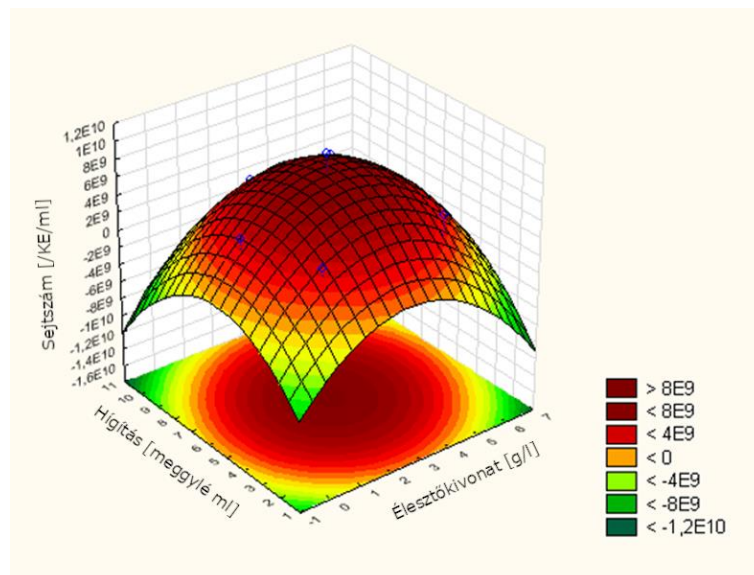
M3.1. ábra: Válaszfelület diagram a meggylé összcsíraszámának (TKE/ml) minimalizálása érdekében, a kezelési idő (perc) és hőmérséklet (°C) függvényében



M3.2. ábra: A pH és adaptáció (Adapt.) hatása a *Lactobacillus* sejtszaporodásra (Pareto-diagram)



M3.3. ábra: A pH és adaptáció együttes hatása a sejtszámra (TKE/ml) meggylében



M3.4. ábra: A hozzáadott élesztőkivonat (g/l) és hígítás együttes hatása a *Lactobacillus* sejtszámra (TKE/ml) meggylében

M4. Szilvalé eredmények

M4.1. táblázat: *L. rhamnosus* GG sejtszám (log TKE/ml), pH, összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) (%) és titrálható savtartalom (tejsavra (m/V%)) (TA) változás az eredeti (natív) szilvalében a fermentáció során

	Ageni		Stanley	
	0 h	24 h	0 h	24 h
Sejtszám (log TKE/ml)	7,522	8,033	7,522	7,451
pH	3,51	3,72	3,35	3,55
TSS	17,2	17,3	10,6	10,5
TA	0,1171	0,1441	0,1261	0,1621

M4.2. táblázat: Központi elrendezésű kísérlettervezés a pH és a hígítás (szilvalé : víz arány (V/V)) optimalizációjára, a *L. rhamnosus* GG sejtszámot (log TKE/ml), mint függő változót alkalmazva

	Független változó (faktor)		Mért paraméterek (válasz)	
	pH	Hígítás	pH	Sejtszám (log TKE/ml)
1	4,00	3 : 7	3,48	8,317
2	4,00	8 : 2	3,69	7,834
3	6,00	3 : 7	3,78	8,256
4	6,00	8 : 2	4,44	8,044
5	3,59	5,5 : 4,5	3,32	8,441
6	6,41	5,5 : 4,5	4,06	8,206
7	5,00	1,96 : 8,04	3,62	8,452
8	5,00	9,04 : 0,96	4,58	8,288
9	5,00	5,5 : 4,5	3,89	8,239
10	5,00	5,5 : 4,5	3,90	8,298

M4.3. táblázat: Központi elrendezésű kísérlettervezés a pH és az élesztőkivonat koncentráció optimalizációjára, a *L. rhamnosus* GG sejtszámot, mint függő változót alkalmazva

	Független változók (faktor)		Mért paraméterek (válasz)
	pH	Élesztőkivonat (g/l)	Sejtszám (log TKE/ml)
1	4,00	1,00	8,640
2	4,00	5,00	8,503
3	6,00	1,00	8,723
4	6,00	5,00	8,815
5	3,59	3,00	8,413
6	6,41	3,00	8,702
7	5,00	0,17	8,284
8	5,00	5,83	8,687
9	5,00	3,00	8,643
10	5,00	3,00	8,589

M4.4. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő sejtszámra az Ageni szilvalében

	L150	Reuteri	LC-01	Shirota	2142	N2	DT41	LGG
L150	-	1,000	0,019	0,040	0,000	0,033	0,000	0,410
Reuteri	1,000	-	0,033	0,065	0,000	0,054	0,000	0,532
LC-01	0,019	0,033	-	1,000	0,018	1,000	0,116	0,856
Shirota	0,040	0,065	1,000	-	0,024	1,000	0,133	0,921
2142	0,000	0,000	0,018	0,024	-	0,030	0,998	0,000
N2	0,033	0,054	1,000	1,000	0,030	-	0,157	0,894
DT41	0,000	0,000	0,116	0,133	0,998	0,157	-	0,002
LGG	0,410	0,532	0,856	0,921	0,000	0,894	0,002	-

M4.5. táblázat: pH, összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) (%), titrálható savtartalom (TA) (tejsavra (m/V%)), összes polifenol tartalom (mg GAE/kg), antioxidáns kapacitás (FRAP) (mM Fe(II)/kg) és szabad gyökfogó kapacitás (DPPH) (mMTr/kg) változás a fermentáció során az Ageni szilvalében

<i>Lactobacillus</i>	pH	TSS	TA	Összpolifenol	FRAP	DPPH
Ø (0 h)	6,49	10,8	0,1982	306,11	2,02	0,92
L150	3,79	10,2	0,7837	294,42	2,06	1,32
Reuteri	3,99	10,0	0,7747	293,33	2,07	1,09
LC-01	3,78	10,2	0,5675	295,27	2,02	0,90
Shirota	3,68	10,1	0,6666	317,26	2,14	1,11
2142	3,84	10,3	0,6486	336,00	2,25	1,10
N2	3,73	10,1	0,6486	279,73	1,93	0,81
DT41	3,76	10,0	0,7116	331,45	2,29	0,96
LGG	3,79	9,9	0,8918	275,95	2,04	0,75

M4.6. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő pH-ra az Ageni szilvalében

	L150	Reuteri	LC-01	Shirota	2142	N2	DT41	LGG
L150	-	0,370	1,000	0,910	0,997	0,997	1,000	1,000
Reuteri	0,370	-	0,347	0,084	0,680	0,174	0,248	0,370
LC-01	1,000	0,347	-	0,928	0,995	0,998	1,000	1,000
Shirota	0,910	0,084	0,928	-	0,619	0,998	0,982	0,910
2142	0,997	0,680	0,995	0,619	-	0,891	0,966	0,997
N2	0,997	0,174	0,998	0,998	0,891	-	1,000	0,997
DT41	1,000	0,248	1,000	0,982	0,966	1,000	-	1,000
LGG	1,000	0,370	1,000	0,910	0,997	0,997	1,000	-

M4.7. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes oldott szárazanyag-tartalomra az Ageni szilvalében

	L150	Reuteri	LC-01	Shirota	2142	N2	DT41	LGG
L150	-	0,591	1,000	0,972	0,972	1,000	0,829	0,210
Reuteri	0,591	-	0,591	0,972	0,210	0,829	1,000	0,972
LC-01	1,000	0,591	-	0,972	0,972	1,000	0,829	0,210
Shirota	0,972	0,972	0,972	-	0,591	1,000	1,000	0,591
2142	0,972	0,210	0,972	0,591	-	0,829	0,367	0,063
N2	1,000	0,829	1,000	1,000	0,829	-	0,972	0,367
DT41	0,829	1,000	0,829	1,000	0,367	0,972	-	0,829
LGG	0,210	0,972	0,210	0,591	0,063	0,367	0,829	-

M4.8. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő titrálható savtartalomra az Ageni szilvalében

	L150	Reuteri	LC-01	Shirota	2142	N2	DT41	LGG
L150	-	1,000	0,016	0,260	0,157	0,157	0,724	0,330
Reuteri	1,000	-	0,020	0,330	0,202	0,202	0,823	0,260
LC-01	0,016	0,020	-	0,415	0,617	0,617	0,121	0,001
Shirota	0,260	0,330	0,415	-	1,000	1,000	0,958	0,012
2142	0,157	0,202	0,617	1,000	-	1,000	0,823	0,008
N2	0,157	0,202	0,617	1,000	1,000	-	0,823	0,008
DT41	0,724	0,823	0,121	0,958	0,823	0,823	-	0,043
LGG	0,330	0,260	0,001	0,012	0,008	0,008	0,043	-

M4.9. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes polifenol tartalomra az Ageni szilvalében

	L150	Reuteri	LC-01	Shirota	2142	N2	DT41	LGG
L150	-	1,000	1,000	0,978	0,688	0,998	0,790	0,993
Reuteri	1,000	-	1,000	0,971	0,662	0,999	0,767	0,995
LC-01	1,000	1,000	-	0,982	0,708	0,998	0,808	0,991
Shirota	0,978	0,971	0,982	-	0,993	0,780	0,999	0,694
2142	0,688	0,662	0,708	0,993	-	0,350	1,000	0,281
N2	0,998	0,999	0,998	0,780	0,350	-	0,447	1,000
DT41	0,790	0,767	0,808	0,999	1,000	0,447	-	0,366
LGG	0,993	0,995	0,991	0,694	0,281	1,000	0,366	-

M4.10. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő antioxidáns kapacitásra (FRAP) az Ageni szilvalében

	L150	Reuteri	LC-01	Shirota	2142	N2	DT41	LGG
L150	-	1,000	1,000	0,993	0,641	0,899	0,438	1,000
Reuteri	1,000	-	0,999	0,997	0,692	0,866	0,487	1,000
LC-01	1,000	0,999	-	0,914	0,381	0,990	0,230	1,000
Shirota	0,993	0,997	0,914	-	0,965	0,495	0,859	0,963
2142	0,641	0,692	0,381	0,965	-	0,107	1,000	0,486
N2	0,899	0,866	0,990	0,495	0,107	-	0,057	0,968
DT41	0,438	0,487	0,230	0,859	1,000	0,057	-	0,307
LGG	1,000	1,000	1,000	0,963	0,486	0,968	0,307	-

M4.11. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő szabad gyökfogó kapacitásra (DPPH) az Ageni szilvalében

	L150	Reuteri	LC-01	Shirota	2142	N2	DT41	LGG
L150	-	0,854	0,261	0,910	0,890	0,108	0,433	0,059
Reuteri	0,854	-	0,942	1,000	1,000	0,709	0,993	0,513
LC-01	0,261	0,942	-	0,898	0,916	0,999	1,000	0,985
Shirota	0,910	1,000	0,898	-	1,000	0,624	0,981	0,431
2142	0,890	1,000	0,916	1,000	-	0,657	0,987	0,462
N2	0,108	0,709	0,999	0,624	0,657	-	0,981	1,000
DT41	0,433	0,993	1,000	0,981	0,987	0,981	-	0,909
LGG	0,059	0,513	0,985	0,431	0,462	1,000	0,909	-

M4.12. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő sejtszámra a Stanley szilvalében

	L150	Reuteri	LC-01	Shirota	2142	N2	DT41	LGG
L150	-	0,625	0,998	0,672	0,000	0,000	0,001	0,781
Reuteri	0,625	-	0,991	1,000	0,109	0,075	0,206	1,000
LC-01	0,998	0,991	-	0,984	0,043	0,030	0,080	0,999
Shirota	0,672	1,000	0,984	-	0,414	0,336	0,573	1,000
2142	0,000	0,109	0,043	0,414	-	1,000	1,000	0,045
N2	0,000	0,075	0,030	0,336	1,000	-	1,000	0,029
DT41	0,001	0,206	0,080	0,573	1,000	1,000	-	0,095
LGG	0,781	1,000	0,999	1,000	0,045	0,029	0,095	-

M4.13. táblázat: pH, összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) (%), titrálható savtartalom (TA) (tejsavra (m/V%)), összes polifenol tartalom (mg GAE/kg), antioxidáns kapacitás (FRAP) (mM Fe(II)/kg) és szabad gyökfogó kapacitás (DPPH) (mMTr/kg) változás a fermentáció során a Stanley szilvalében

<i>Lactobacillus</i>	pH	TSS	TA	Összpolifenol	FRAP	DPPH
Ø (0 h)	6,52	7,2	0,1261	293,37	2,17	0,84
L150	4,10	6,9	0,3333	263,96	2,01	0,65
Reuteri	3,82	6,3	0,7432	266,79	1,96	0,95
LC-01	3,75	6,6	0,6396	259,86	2,20	0,90
Shirota	3,77	6,7	0,5495	244,81	1,81	1,03
2142	3,83	6,7	0,6125	271,64	1,96	1,22
N2	3,68	6,8	0,6666	279,48	2,10	0,84
DT41	3,77	6,9	0,6035	274,28	2,01	1,12
LGG	3,86	6,3	0,7657	213,23	1,91	0,56

M4.14. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő pH-ra a Stanley szilvalében

	L150	Reuteri	LC-01	Shirota	2142	N2	DT41	LGG
L150	-	0,414	0,229	0,264	0,450	0,114	0,277	0,568
Reuteri	0,414	-	0,999	1,000	1,000	0,948	1,000	1,000
LC-01	0,229	0,999	-	1,000	0,998	0,999	1,000	0,986
Shirota	0,264	1,000	1,000	-	1,000	0,996	1,000	0,994
2142	0,450	1,000	0,998	1,000	-	0,928	1,000	1,000
N2	0,114	0,948	0,999	0,996	0,928	-	0,994	0,845
DT41	0,277	1,000	1,000	1,000	1,000	0,994	-	0,996
LGG	0,568	1,000	0,986	0,994	1,000	0,845	0,996	-

M4.15. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes oldott szárazanyag-tartalomra a Stanley szilvalében

	L150	Reuteri	LC-01	Shirota	2142	N2	DT41	LGG
L150	-	0,595	0,957	0,995	0,999	1,000	1,000	0,507
Reuteri	0,595	-	0,983	0,912	0,850	0,685	0,595	1,000
LC-01	0,957	0,983	-	1,000	0,999	0,983	0,957	0,957
Shirota	0,995	0,912	1,000	-	1,000	0,999	0,995	0,850
2142	0,999	0,850	0,999	1,000	-	1,000	0,999	0,772
N2	1,000	0,685	0,983	0,999	1,000	-	1,000	0,595
DT41	1,000	0,595	0,957	0,995	0,999	1,000	-	0,507
LGG	0,507	1,000	0,957	0,850	0,772	0,595	0,507	-

M4.16. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő titrálható savtartalomra a Stanley szilvalében

	L150	Reuteri	LC-01	Shirota	2142	N2	DT41	LGG
L150	-	0,006	0,034	0,169	0,055	0,022	0,065	0,004
Reuteri	0,006	-	0,818	0,248	0,629	0,948	0,563	1,000
LC-01	0,034	0,818	-	0,894	1,000	1,000	0,999	0,662
Shirota	0,169	0,248	0,894	-	0,981	0,727	0,992	0,169
2142	0,055	0,629	1,000	0,981	-	0,992	1,000	0,469
N2	0,022	0,948	1,000	0,727	0,992	-	0,981	0,845
DT41	0,065	0,563	0,999	0,992	1,000	0,981	-	0,411
LGG	0,004	1,000	0,662	0,169	0,469	0,845	0,411	-

M4.17. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes polifenol tartalomra a Stanley szilvalében

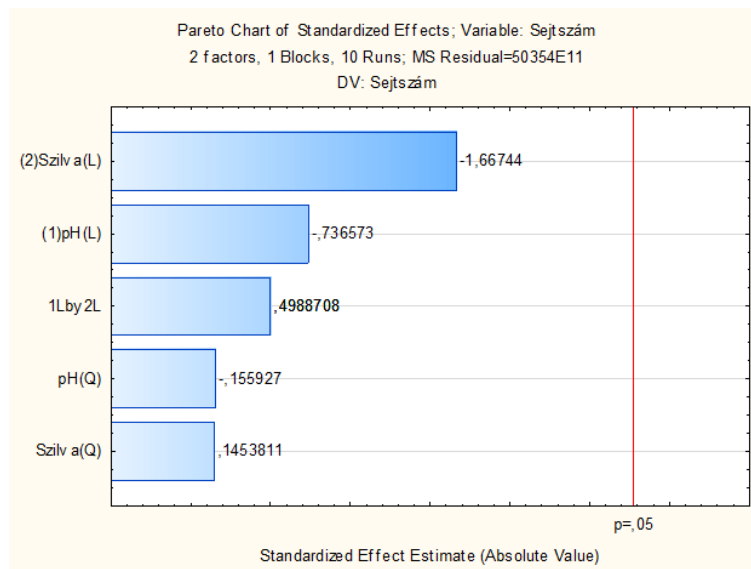
	L150	Reuteri	LC-01	Shirota	2142	N2	DT41	LGG
L150	-	1,000	1,000	0,904	0,999	0,966	0,997	0,066
Reuteri	1,000	-	1,000	0,829	1,000	0,989	1,000	0,047
LC-01	1,000	1,000	-	0,971	0,993	0,893	0,977	0,108
Shirota	0,904	0,829	0,971	-	0,658	0,369	0,556	0,477
2142	0,999	1,000	0,993	0,658	-	0,999	1,000	0,026
N2	0,966	0,989	0,893	0,369	0,999	-	1,000	0,010
DT41	0,997	1,000	0,977	0,556	1,000	1,000	-	0,019
LGG	0,066	0,047	0,108	0,477	0,026	0,010	0,019	-

M4.18. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő antioxidáns kapacitásra (FRAP) a Stanley szilvalében

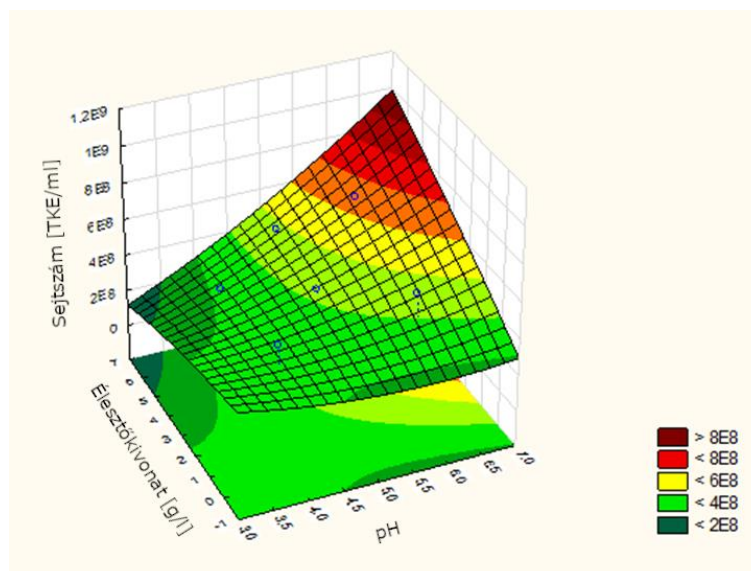
	L150	Reuteri	LC-01	Shirota	2142	N2	DT41	LGG
L150	-	1,000	0,779	0,761	1,000	0,995	1,000	0,990
Reuteri	1,000	-	0,565	0,922	1,000	0,948	1,000	1,000
LC-01	0,779	0,565	-	0,097	0,530	0,990	0,763	0,329
Shirota	0,761	0,922	0,097	-	0,939	0,352	0,778	0,993
2142	1,000	1,000	0,530	0,939	-	0,932	1,000	1,000
N2	0,995	0,948	0,990	0,352	0,932	-	0,993	0,778
DT41	1,000	1,000	0,763	0,778	1,000	0,993	-	0,992
LGG	0,990	1,000	0,329	0,993	1,000	0,778	0,992	-

M4.19. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő szabad gyökfogó kapacitásra (DPPH) a Stanley szilvalében

	L150	Reuteri	LC-01	Shirota	2142	N2	DT41	LGG
L150	-	0,007	0,033	0,001	0,000	0,166	0,000	0,886
Reuteri	0,007	-	0,992	0,918	0,015	0,706	0,213	0,001
LC-01	0,033	0,992	-	0,520	0,003	0,983	0,055	0,003
Shirota	0,001	0,918	0,520	-	0,144	0,143	0,832	0,000
2142	0,000	0,015	0,003	0,144	-	0,001	0,824	0,000
N2	0,166	0,706	0,983	0,143	0,001	-	0,010	0,015
DT41	0,000	0,213	0,055	0,832	0,824	0,010	-	0,000
LGG	0,886	0,001	0,003	0,000	0,000	0,015	0,000	-



M4.1. ábra: A pH és hígítás (Szilva) hatása a *Lactobacillus* sejtszaporodásra szilvalében (Pareto-diagram)



M4.2. ábra: A hozzáadott élesztőkivonat (g/l) és pH együttes hatása a *Lactobacillus* sejtszámra (log TKE/ml) szilvalében

M5. Fekete berkenyelé eredmények

M5.1. táblázat: 8 kísérletből álló kísérleti terv 7 tápanyag (hatás) vizsgálatára. Az alkalmazott koncentrációkat (1-es, 2-es jelölés) az M5.2. táblázat tartalmazza.

Dextróz	Pepton	Élesztőkivonat	Dikálium-hidrogén-foszfát	Trinátrium-citrát	Magnézium-szulfát·7H ₂ O	Mangán-szulfát·4H ₂ O	Sejtszám 24 h (log TKE/ml)
2	2	1	2	1	1	2	7,058
2	2	1	1	2	2	1	7,018
2	1	2	2	1	2	1	8,497
2	1	2	1	2	1	2	8,522
1	2	2	2	2	1	1	7,076
1	2	2	1	1	2	2	7,041
1	1	1	2	2	2	2	8,571
1	1	1	1	1	1	1	8,082

M5.2. táblázat: A 7 kiegészítő tápanyag alkalmazott koncentrációi (g/l)

Összetevő	1-es	2-es
Dextróz	10	2
Pepton	5	1
Élesztőkivonat	2	0,4
Dikálium-hidrogén-foszfát	1	0,2
Trinátrium-citrát	2,2	0,44
Magnézium-szulfát·7H ₂ O	0,1	0,02
Mangán-szulfát·4H ₂ O	0,025	0,005

M5.3. táblázat: Központi elrendezésű kísérlettervezés a pepton koncentráció és a pH optimalizációjára, a *L. acidophilus* 150 sejtszámot (log TKE/ml), mint függő változót alkalmazva

	Független változó (faktor)		Mért parameter (válasz)
	Pepton (g/l)	pH	Sejtszám (log TKE/ml)
1	2,00	3,00	6,699
2	2,00	6,00	7,833
3	5,00	3,00	8,000
4	5,00	6,00	8,478
5	1,38	4,50	7,512
6	5,62	4,50	8,708
7	3,50	2,38	>6,699
8	3,50	6,62	8,031
9	3,50	4,50	7,628
10	3,50	4,50	7,336

M5.4. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő sejtszámra a Néro fekete berkenyelében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	1,000	0,654	1,000	1,000	0,000	0,015	0,004	0,001
LA-5	1,000	-	0,743	1,000	1,000	0,000	0,039	0,013	0,004
L150	0,654	0,743	-	0,732	0,878	0,000	0,234	0,059	0,011
Shirota	1,000	1,000	0,732	-	1,000	0,000	0,022	0,006	0,001
LC-01	1,000	1,000	0,878	1,000	-	0,000	0,137	0,063	0,027
Reuteri	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-	0,017	0,087	0,305
2142	0,015	0,039	0,234	0,022	0,137	0,017	-	1,000	0,952
N2	0,004	0,013	0,059	0,006	0,063	0,087	1,000	-	1,000
DT41	0,001	0,004	0,011	0,001	0,027	0,305	0,952	1,000	-

M5.5. táblázat: pH, összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) (%), titrálható savtartalom (TA) (tejsavra (m/V%)), összes polifenol tartalom (mg GAE/kg), antioxidáns kapacitás (FRAP) (mM Fe(II)/kg) és szabad gyökfogó kapacitás (DPPH) (mMTr/kg) változás a fermentáció során a Nero fekete berkenyelében

<i>Lactobacillus</i>	pH	TSS	TA	Összpolifenol	FRAP	DPPH
eredeti berkenyelé	3,77	19,5	1,1530	5116,65	78,81	39,20
Ø (0 h)	4,50	15,9	0,5765	3937,05	65,17	31,52
LGG	4,49	15,7	0,5855	4495,36	67,35	29,72
LA-5	4,46	15,4	0,6216	4454,98	68,43	32,68
L150	4,41	15,2	0,5945	4342,29	60,92	33,08
Shirota	4,37	15,5	0,6666	4419,20	68,32	33,99
LC-01	4,46	15,7	0,6216	4280,30	71,73	28,95
Reuteri	4,28	15,3	0,5495	4819,93	68,30	31,73
2142	4,34	15,7	0,5945	4351,76	74,37	31,23
N2	4,29	15,6	0,5495	4488,45	75,93	30,97
DT41	4,27	15,3	0,5765	4545,41	73,45	32,22

M5.6. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő pH-ra a Néro fekete berkenyelében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	0,777	0,022	0,002	0,777	0,000	0,000	0,000	0,000
LA-5	0,777	-	0,190	0,015	1,000	0,000	0,002	0,000	0,000
L150	0,022	0,190	-	0,637	0,190	0,002	0,064	0,003	0,001
Shirota	0,002	0,015	0,637	-	0,015	0,015	0,637	0,031	0,008
LC-01	0,777	1,000	0,190	0,015	-	0,000	0,002	0,000	0,000
Reuteri	0,000	0,000	0,002	0,015	0,000	-	0,190	1,000	1,000
2142	0,000	0,002	0,064	0,637	0,002	0,190	-	0,370	0,093
N2	0,000	0,000	0,003	0,031	0,000	1,000	0,370	-	0,964
DT41	0,000	0,000	0,001	0,008	0,000	1,000	0,093	0,964	-

M5.7. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes oldott szárazanyag-tartalomra a Néró fekete berkenyelében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	0,978	0,808	0,997	1,000	0,954	1,000	1,000	0,954
LA-5	0,978	-	0,999	1,000	0,991	1,000	0,991	0,999	1,000
L150	0,808	0,999	-	0,991	0,869	1,000	0,869	0,954	1,000
Shirota	0,997	1,000	0,991	-	0,999	1,000	0,999	1,000	1,000
LC-01	1,000	0,991	0,869	0,999	-	0,978	1,000	1,000	0,978
Reuteri	0,954	1,000	1,000	1,000	0,978	-	0,978	0,997	1,000
2142	1,000	0,991	0,869	0,999	1,000	0,978	-	1,000	0,978
N2	1,000	0,999	0,954	1,000	1,000	0,997	1,000	-	0,997
DT41	0,954	1,000	1,000	1,000	0,978	1,000	0,978	0,997	-

M5.8. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő titrálható savtartalomra a Néró fekete berkenyelében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	0,987	1,000	0,564	0,987	0,987	1,000	0,987	1,000
LA-5	0,987	-	0,998	0,955	1,000	0,684	0,998	0,684	0,955
L150	1,000	0,998	-	0,684	0,998	0,955	1,000	0,955	1,000
Shirota	0,564	0,955	0,684	-	0,955	0,200	0,684	0,200	0,450
LC-01	0,987	1,000	0,998	0,955	-	0,684	0,998	0,684	0,955
Reuteri	0,987	0,684	0,955	0,200	0,684	-	0,955	1,000	0,998
2142	1,000	0,998	1,000	0,684	0,998	0,955	-	0,955	1,000
N2	0,987	0,684	0,955	0,200	0,684	1,000	0,955	-	0,998
DT41	1,000	0,955	1,000	0,450	0,955	0,998	1,000	0,998	-

M5.9. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes polifenol tartalomra a Néró fekete berkenyelében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	1,000	0,978	1,000	0,867	0,458	0,985	1,000	1,000
LA-5	1,000	-	0,997	1,000	0,953	0,317	0,998	1,000	0,999
L150	0,978	0,997	-	1,000	1,000	0,089	1,000	0,983	0,898
Shirota	1,000	1,000	1,000	-	0,988	0,219	1,000	1,000	0,993
LC-01	0,867	0,953	1,000	0,988	-	0,040	1,000	0,885	0,694
Reuteri	0,458	0,317	0,089	0,219	0,040	-	0,100	0,432	0,657
2142	0,985	0,998	1,000	1,000	1,000	0,100	-	0,989	0,919
N2	1,000	1,000	0,983	1,000	0,885	0,432	0,989	-	1,000
DT41	1,000	0,999	0,898	0,993	0,694	0,657	0,919	1,000	-

M5.10. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő antioxidáns kapacitásra (FRAP) a Néró fekete berkenyelében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	1,000	0,353	1,000	0,786	1,000	0,256	0,096	0,419
LA-5	1,000	-	0,192	1,000	0,942	1,000	0,449	0,192	0,651
L150	0,353	0,192	0,205	0,205	0,019	0,207	0,003	0,001	0,005
Shirota	1,000	1,000	-	0,932	0,932	1,000	0,427	0,180	0,628
LC-01	0,786	0,942	0,019	-	-	0,930	0,984	0,818	0,999
Reuteri	1,000	1,000	0,207	1,000	0,930	-	0,423	0,178	0,624
2142	0,256	0,449	0,003	0,427	0,984	0,423	-	1,000	1,000
N2	0,096	0,192	0,001	0,180	0,818	0,178	1,000	-	0,989
DT41	0,419	0,651	0,005	0,628	0,999	0,624	1,000	0,989	-

M5.11. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő szabad gyökfogyó kapacitásra (DPPH) a Néró fekete berkenyelében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	0,592	0,441	0,179	1,000	0,911	0,981	0,994	0,771
LA-5	0,592	-	1,000	0,992	0,313	0,999	0,986	0,962	1,000
L150	0,441	1,000	-	0,999	0,210	0,991	0,944	0,890	1,000
Shirota	0,179	0,992	0,999	-	0,071	0,847	0,673	0,569	0,953
LC-01	1,000	0,313	0,210	0,071	-	0,664	0,840	0,909	0,474
Reuteri	0,911	0,999	0,991	0,847	0,664	-	1,000	1,000	1,000
2142	0,981	0,986	0,944	0,673	0,840	1,000	-	1,000	0,999
N2	0,994	0,962	0,890	0,569	0,909	1,000	1,000	-	0,995
DT41	0,771	1,000	1,000	0,953	0,474	1,000	0,999	0,995	-

M5.12. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő sejtszámra a Viking fekete berkenyelében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	0,988	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
LA-5	0,988	-	0,022	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
L150	0,002	0,022	-	0,663	0,000	0,000	0,022	0,015	0,000
Shirota	0,000	0,000	0,663	-	0,019	0,000	0,780	0,704	0,000
LC-01	0,000	0,000	0,000	0,019	-	0,520	0,613	0,694	0,011
Reuteri	0,000	0,000	0,000	0,000	0,520	-	0,004	0,006	0,705
2142	0,000	0,000	0,022	0,780	0,613	0,004	-	1,000	0,000
N2	0,000	0,000	0,015	0,704	0,694	0,006	1,000	-	0,000
DT41	0,000	0,000	0,000	0,000	0,011	0,705	0,000	0,000	-

M5.13. táblázat: pH, összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) (%), titrálható savtartalom (TA) (tejsavra (m/V%)), összes polifenol tartalom (mg GAE/kg), antioxidáns kapacitás (FRAP) (mM Fe(II)/kg) és szabad gyökfogó kapacitás (DPPH) (mMTr/kg) változás a fermentáció során a Viking fekete berkenyelében

<i>Lactobacillus</i>	pH	TSS	TA	Összpolifenol	FRAP	DPPH
eredeti berkenyelé	3,80	16,2	0,8468	4228,58	62,07	31,76
Ø (0 h)	4,50	14,7	0,5405	3446,92	45,02	24,24
LGG	4,54	13,5	0,5225	3299,72	47,93	24,62
LA-5	4,59	13,5	0,4774	3478,78	45,51	25,30
L150	4,47	13,4	0,5135	3351,41	47,10	22,90
Shirota	4,62	13,3	0,4684	3249,47	43,77	21,38
LC-01	4,44	13,2	0,5315	3129,37	43,14	20,20
Reuteri	4,38	13,2	0,5585	3309,40	45,73	22,94
2142	4,34	13,2	0,5855	3105,15	45,75	22,14
N2	4,34	13,3	0,5675	3406,69	47,08	22,89
DT41	4,10	13,1	0,7387	3378,30	45,24	18,69

M5.14. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő pH-ra a Viking fekete berkenyelében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	0,913	0,767	0,645	0,462	0,078	0,019	0,019	0,000
LA-5	0,913	-	0,200	0,999	0,092	0,014	0,004	0,004	0,000
L150	0,767	0,200	-	0,092	0,999	0,582	0,172	0,172	0,000
Shirota	0,645	0,999	0,092	-	0,042	0,007	0,002	0,002	0,000
LC-01	0,462	0,092	0,999	0,042	-	0,872	0,357	0,357	0,000
Reuteri	0,078	0,014	0,582	0,007	0,872	-	0,968	0,968	0,002
2142	0,019	0,004	0,172	0,002	0,357	0,968	-	1,000	0,007
N2	0,019	0,004	0,172	0,002	0,357	0,968	1,000	-	0,007
DT41	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,007	0,007	-

M5.15. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes oldott szárazanyag-tartalomra a Viking fekete berkenyelében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	0,982	0,221	0,018	0,002	0,005	0,005	0,018	0,001
LA-5	0,982	-	0,631	0,062	0,005	0,018	0,018	0,062	0,002
L150	0,221	0,631	-	0,631	0,062	0,221	0,221	0,631	0,018
Shirota	0,018	0,062	0,631	-	0,631	0,982	0,982	1,000	0,221
LC-01	0,002	0,005	0,062	0,631	-	0,982	0,982	0,631	0,982
Reuteri	0,005	0,018	0,221	0,982	0,982	-	1,000	0,982	0,631
2142	0,005	0,018	0,221	0,982	0,982	1,000	-	0,982	0,631
N2	0,018	0,062	0,631	1,000	0,631	0,982	0,982	-	0,221
DT41	0,001	0,002	0,018	0,221	0,982	0,631	0,631	0,221	-

M5.16. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő titrálható savtartalomra a Viking fekete berkenyelében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	0,871	1,000	0,743	1,000	0,955	0,594	0,871	0,002
LA-5	0,871	-	0,955	1,000	0,743	0,328	0,110	0,232	0,000
L150	1,000	0,955	-	0,871	0,999	0,871	0,450	0,743	0,001
Shirota	0,743	1,000	0,871	-	0,594	0,232	0,075	0,161	0,000
LC-01	1,000	0,743	0,999	0,594	-	0,991	0,743	0,955	0,002
Reuteri	0,955	0,328	0,871	0,232	0,991	-	0,991	1,000	0,006
2142	0,594	0,110	0,450	0,075	0,743	0,991	-	0,999	0,017
N2	0,871	0,232	0,743	0,161	0,955	1,000	0,999	-	0,008
DT41	0,002	0,000	0,001	0,000	0,002	0,006	0,017	0,008	-

M5.17. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes polifenol tartalomra a Viking fekete berkenyelében

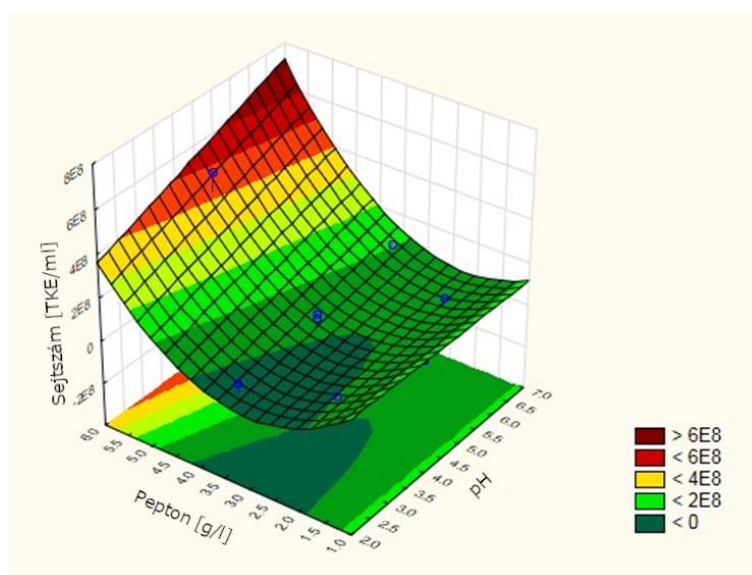
	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	0,874	1,000	1,000	0,900	1,000	0,819	0,993	0,999
LA-5	0,874	-	0,979	0,667	0,188	0,903	0,135	1,000	0,995
L150	1,000	0,979	-	0,995	0,701	1,000	0,586	1,000	1,000
Shirota	1,000	0,667	0,995	-	0,986	1,000	0,958	0,933	0,978
LC-01	0,900	0,188	0,701	0,986	-	0,871	1,000	0,441	0,573
Reuteri	1,000	0,903	1,000	1,000	0,871	-	0,780	0,996	1,000
2142	0,819	0,135	0,586	0,958	1,000	0,780	-	0,340	0,460
N2	0,993	1,000	1,000	0,933	0,441	0,996	0,340	-	1,000
DT41	0,999	0,995	1,000	0,978	0,573	1,000	0,460	1,000	-

M5.18. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő antioxidáns kapacitásra (FRAP) a Néró fekete berkenyelében

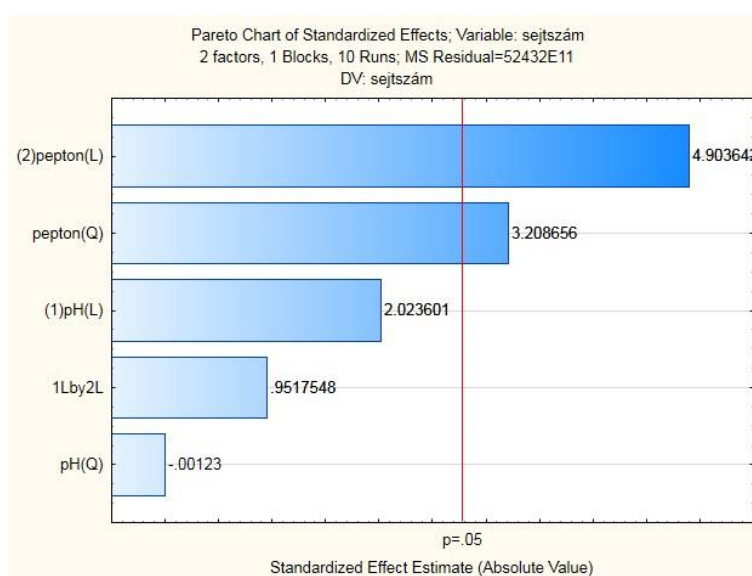
	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	0,763	1,000	0,166	0,076	0,838	0,843	1,000	0,655
LA-5	0,763	-	0,968	0,947	0,778	1,000	1,000	0,971	1,000
L150	1,000	0,968	-	0,395	0,208	0,987	0,988	1,000	0,924
Shirota	0,166	0,947	0,395	-	1,000	0,903	0,900	0,404	0,980
LC-01	0,076	0,778	0,208	1,000	-	0,695	0,689	0,213	0,868
Reuteri	0,838	1,000	0,987	0,903	0,695	-	1,000	0,988	1,000
2142	0,843	1,000	0,988	0,900	0,689	1,000	-	0,989	1,000
N2	1,000	0,971	1,000	0,404	0,213	0,988	0,989	-	0,929
DT41	0,655	1,000	0,924	0,980	0,868	1,000	1,000	0,929	-

M5.19. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő szabad gyökfogó kapacitásra (DPPH) a Néró fekete berkenyelében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	1,000	0,943	0,397	0,104	0,949	0,711	0,940	0,013
LA-5	1,000	-	0,743	0,192	0,042	0,757	0,429	0,737	0,005
L150	0,943	0,743	-	0,971	0,619	1,000	1,000	1,000	0,136
Shirota	0,397	0,192	0,971	-	0,994	0,967	1,000	0,973	0,624
LC-01	0,104	0,042	0,619	0,994	-	0,604	0,895	0,626	0,972
Reuteri	0,949	0,757	1,000	0,967	0,604	-	1,000	1,000	0,129
2142	0,711	0,429	1,000	1,000	0,895	1,000	-	1,000	0,323
N2	0,940	0,737	1,000	0,973	0,626	1,000	1,000	-	0,138
DT41	0,013	0,005	0,136	0,624	0,972	0,129	0,323	0,138	-



M5.1. ábra: A hozzáadott pepton (g/l) és pH együttes hatása a *L. acidophilus* 150 sejtszámra (log TKE/ml) Fekete berkenyelében



M5.2. ábra: A pH és pepton hozzáadás hatása a *Lactobacillus* sejtszaporodásra (Pareto-diagram)

M6. Birsalmalé eredmények

M6.1. táblázat: *Lactobacillus* sejtszám változás (log TKE/ml) az eredeti (natív) birsalmalében

<i>Lactobacillus</i>	0 h	24 h
LGG	6,164	< log 6,699
L150	7,978	7,620
DT41	8,007	7,584

M6.2. táblázat: 8 kísérletből álló kísérleti terv 7 tápanyag (hatás) vizsgálatára

Dextróz	Pepton	Élesztő kivonat	Dikálium-hidrogén-foszfát	Trinátrium-citrát	Magnézium-szulfát·7H ₂ O	Mangán-szulfát·4H ₂ O	Sejtszám 24 h (log TKE/ml)
2	2	1	2	1	1	2	6,886
2	2	1	1	2	2	1	6,875
2	1	2	2	1	2	1	8,725
2	1	2	1	2	1	2	8,765
1	2	2	2	2	1	1	7,054
1	2	2	1	1	2	2	6,336
1	1	1	2	2	2	2	8,509
1	1	1	1	1	1	1	7,894

M6.3. táblázat: Központi elrendezésű kísérlettervezés a pepton koncentráció (g/l) és a pH optimalizációjára, a *L. casei* Shirota sejtszámot (log TKE/ml), mint függő változót alkalmazva

	Független változó (faktor)		Mért paraméter (válasz)
	Pepton	pH	Sejtszám
1	2,00	3,00	7,222
2	2,00	6,00	6,875
3	5,00	3,00	7,452
4	5,00	6,00	8,850
5	1,38	4,50	7,623
6	5,62	4,50	8,362
7	3,50	2,38	<6,699
8	3,50	6,62	8,411
9	3,50	4,50	7,602
10	3,50	4,50	7,748

M6.4. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő sejtszámra az Angersi birsalmalében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000
LA-5	1,000	-	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000
L150	0,000	0,000	-	0,992	0,000	0,037	0,162	0,789	0,594
Shirota	0,000	0,000	0,992	-	0,000	0,004	0,690	0,251	0,979
LC-01	1,000	1,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	0,000
Reuteri	0,000	0,000	0,037	0,004	0,000	-	0,000	0,557	0,000
2142	0,000	0,000	0,162	0,690	0,000	0,000	-	0,002	0,999
N2	0,000	0,000	0,789	0,251	0,000	0,557	0,002	-	0,026
DT41	0,000	0,000	0,594	0,979	0,000	0,000	0,999	0,026	-

M6.5. táblázat: pH, összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) (%) és tirálható savtartalom (TA) (tejsavra (m/V%) változás a fermentáció során az Angersi birsalmalében

<i>Lactobacillus</i>	pH	TSS	TA
eredeti birsalmalé	3,26	7,0	0,5585
Ø (0 h)	6,03	6,3	0,1261
LGG	5,78	6,1	0,1712
LA-5	5,68	6,1	0,2252
L150	4,22	5,8	0,3964
Shirota	4,53	5,8	0,3153
LC-01	5,73	6,1	0,1531
Reuteri	4,19	5,6	0,3693
2142	4,22	5,5	0,3873
N2	4,07	5,5	0,5405
DT41	4,26	5,6	0,4864

M6.6. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő pH-ra az Angersi birsalmalében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	0,519	0,000	0,000	0,958	0,000	0,000	0,000	0,000
LA-5	0,519	-	0,000	0,000	0,976	0,000	0,000	0,000	0,000
L150	0,000	0,000	-	0,002	0,000	0,998	1,000	0,117	0,995
Shirota	0,000	0,000	0,002	-	0,000	0,001	0,001	0,000	0,004
LC-01	0,958	0,976	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	0,000
Reuteri	0,000	0,000	0,998	0,001	0,000	-	0,999	0,278	0,856
2142	0,000	0,000	1,000	0,001	0,000	0,999	-	0,135	0,988
N2	0,000	0,000	0,117	0,000	0,000	0,278	0,135	-	0,041
DT41	0,000	0,000	0,995	0,004	0,000	0,856	0,988	0,041	-

M6.7. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes oldott szárazanyag-tartalomra az Angersi birsalmalében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	0,994	0,006	0,006	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000
LA-5	0,994	-	0,016	0,016	0,994	0,001	0,000	0,000	0,001
L150	0,006	0,016	-	1,000	0,006	0,378	0,047	0,047	0,378
Shirota	0,006	0,016	1,000	-	0,006	0,378	0,047	0,047	0,378
LC-01	1,000	0,994	0,006	0,006	-	0,000	0,000	0,000	0,000
Reuteri	0,000	0,001	0,378	0,378	0,000	-	0,784	0,784	1,000
2142	0,000	0,000	0,047	0,047	0,000	0,784	-	1,000	0,784
N2	0,000	0,000	0,047	0,047	0,000	0,784	1,000	-	0,784
DT41	0,000	0,001	0,378	0,378	0,000	1,000	0,784	0,784	-

M6.8. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő titrálható savtartalomra az Angersi birsalmalében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	0,801	0,002	0,037	1,000	0,005	0,003	0,000	0,000
LA-5	0,801	-	0,013	0,297	0,529	0,037	0,019	0,000	0,001
L150	0,002	0,013	-	0,402	0,001	0,995	1,000	0,037	0,297
Shirota	0,037	0,297	0,402	-	0,019	0,801	0,529	0,002	0,013
LC-01	1,000	0,529	0,001	0,019	-	0,003	0,002	0,000	0,000
Reuteri	0,005	0,037	0,995	0,801	0,003	-	1,000	0,013	0,107
2142	0,003	0,019	1,000	0,529	0,002	1,000	-	0,026	0,214
N2	0,000	0,000	0,037	0,002	0,000	0,013	0,026	-	0,801
DT41	0,000	0,001	0,297	0,013	0,000	0,107	0,214	0,801	-

M6.9. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő sejtszámra a Csokonai birsalmalében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	1,000	0,000	0,000	1,000	0,001	0,000	0,000	0,000
LA-5	1,000	-	0,000	0,000	1,000	0,001	0,000	0,000	0,000
L150	0,000	0,000	-	1,000	0,001	0,997	0,062	1,000	0,987
Shirota	0,000	0,000	1,000	-	0,001	0,996	0,064	1,000	0,988
LC-01	1,000	1,000	0,001	0,001	-	0,008	0,000	0,000	0,000
Reuteri	0,001	0,001	0,997	0,996	0,008	-	0,013	0,912	0,772
2142	0,000	0,000	0,062	0,064	0,000	0,013	-	0,212	0,501
N2	0,000	0,000	1,000	1,000	0,000	0,912	0,212	-	1,000
DT41	0,000	0,000	0,987	0,988	0,000	0,772	0,501	1,000	-

M6.10. táblázat: pH, összes oldott szilárdanyag-tartalom (TSS) (%) és tirálható savtartalom (TA) (tejsavra (m/V%)) változás a fermentáció során a Csokonai birsalmalében

<i>Lactobacillus</i>	pH	TSS	TA
eredeti birsalmalé	3,53	7,3	0,4684
Ø (0 h)	6,05	6,5	0,1261
LGG	5,66	6,5	0,1982
LA-5	5,62	6,4	0,1892
L150	4,10	6,1	0,5495
Shirota	4,33	6,2	0,5135
LC-01	5,72	6,4	0,1892
Reuteri	4,17	6,0	0,5044
2142	4,12	6,0	0,5135
N2	4,03	6,1	0,6216
DT41	4,07	5,9	0,5765

M6.11. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő pH-ra a Csokonai birsalmalében

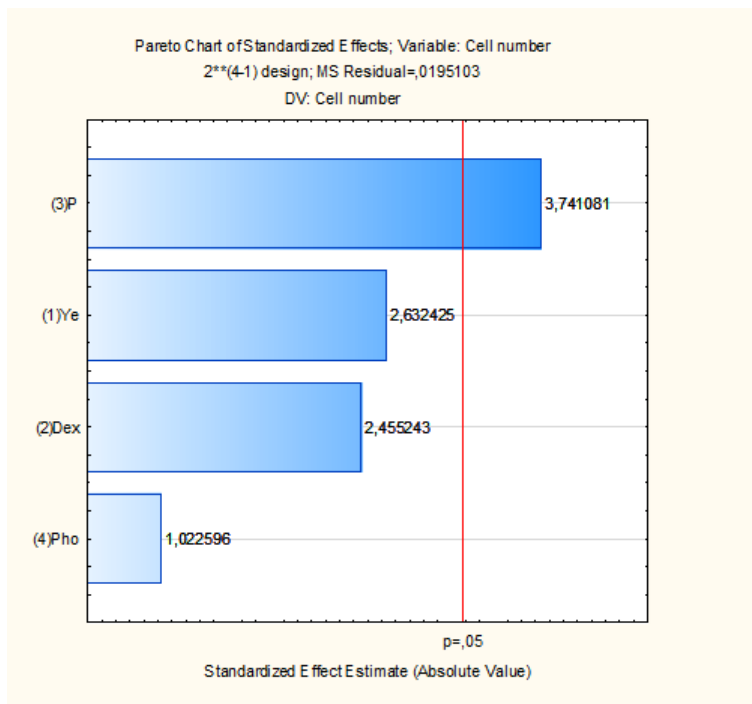
	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	0,981	0,000	0,000	0,854	0,000	0,000	0,000	0,000
LA-5	0,981	-	0,000	0,000	0,375	0,000	0,000	0,000	0,000
L150	0,000	0,000	-	0,006	0,000	0,741	1,000	0,678	0,991
Shirota	0,000	0,000	0,006	-	0,000	0,057	0,012	0,001	0,002
LC-01	0,854	0,375	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	0,000
Reuteri	0,000	0,000	0,741	0,057	0,000	-	0,936	0,093	0,325
2142	0,000	0,000	1,000	0,012	0,000	0,936	-	0,429	0,899
N2	0,000	0,000	0,678	0,001	0,000	0,093	0,429	-	0,981
DT41	0,000	0,000	0,991	0,002	0,000	0,325	0,899	0,981	-

M6.12. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes oldott szárazanyag-tartalomra a Csokonai birsalmalében

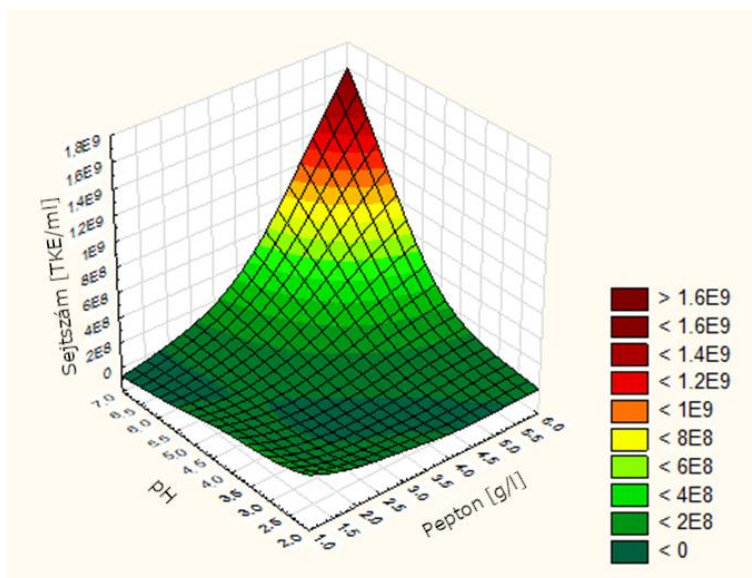
	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	0,663	0,007	0,073	0,003	0,003	0,007	0,000	0,931
LA-5	0,663	-	0,073	0,663	0,032	0,032	0,073	0,003	0,999
L150	0,007	0,073	-	0,663	0,999	0,999	1,000	0,359	0,032
Shirota	0,073	0,663	0,663	-	0,359	0,359	0,663	0,032	0,359
LC-01	0,003	0,032	0,999	0,359	-	1,000	0,999	0,663	0,014
Reuteri	0,003	0,032	0,999	0,359	1,000	-	0,999	0,663	0,014
2142	0,007	0,073	1,000	0,663	0,999	0,999	-	0,359	0,032
N2	0,000	0,003	0,359	0,032	0,663	0,663	0,359	-	0,002
DT41	0,931	0,999	0,032	0,359	0,014	0,014	0,032	0,002	-

M6.13. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő titrálható savtartalomra a Csokonai birsalmalében

	LGG	LA-5	L150	Shirota	LC-01	Reuteri	2142	N2	DT41
LGG	-	1,000	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000
LA-5	1,000	-	0,000	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000
L150	0,000	0,000	-	0,678	0,000	0,443	0,678	0,079	0,889
Shirota	0,000	0,000	0,678	-	0,000	1,000	1,000	0,007	0,146
LC-01	1,000	1,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	0,000
Reuteri	0,000	0,000	0,443	1,000	0,000	-	1,000	0,004	0,079
2142	0,000	0,000	0,678	1,000	0,000	1,000	-	0,007	0,146
N2	0,000	0,000	0,079	0,007	0,000	0,004	0,007	-	0,443
DT41	0,000	0,000	0,889	0,146	0,000	0,079	0,146	0,443	-



M6.1. ábra: A pepton (P), élesztőkivonat (YE), dextróz (Dex) és foszfát (Pho) hozzáadás hatása a *Lactobacillus* sejtszaporodásra (Pareto-diagram) a pH állított birsalmalében



M6.2. ábra: A hozzáadott pepton (g/l) és pH együttes hatása a *L. casei* Shirota sejtszámra (log TKE/ml) birsalmalében

M7. Paradicsomlé eredmények

M7.1. táblázat: Feldolgozási módszerek közötti különbség a fermentáció során – pH, összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) (%), tirálható savtartalom (TA) (tejsavra (m/V%)) tekintetében – az Uno Rosso paradicsomlében

Kezelés	<i>Lactobacillus</i>	pH	TSS	TA
hot break	eredeti paradicsomlé	4,40	5,1	0,6486
	LGG	3,77	3,9	1,4413
	L150	3,55	4,4	1,5133
	Shirota	3,61	4,3	1,4052
	2142	3,65	4,2	1,6485
	N2	3,57	4,4	1,4773
80 °C	eredeti paradicsomlé	4,19	5,6	0,7747
	LGG	4,12	4,5	1,4323
	L150	4,06	4,4	1,5944
	Shirota	3,89	4,9	1,5314
	2142	4,01	4,6	1,3872
	N2	4,02	4,5	1,5133
50 °C	eredeti paradicsomlé	4,34	5,0	0,6306
	LGG	3,59	4,4	1,1530
	L150	3,64	4,4	1,3422
	Shirota	3,61	4,4	1,3062
	2142	3,75	4,1	1,3512
	N2	3,58	4,5	1,3602

M7.2. táblázat: Feldolgozási módszerek közötti különbség a fermentáció során – *Lactobacillus* sejtszám (log TKE/ml) változás és növekedési ráta (%) tekintetében – az Uno Rosso paradicsomlében

Kezelés	<i>Lactobacillus</i>	0 h	24 h	Növekedési ráta	
hot break	LGG	7,620	9,023	18,41	
	L150	7,608	9,262	21,74	
	Shirota	7,652	9,263	21,06	
	2142	7,903	9,222	16,69	
	N2	7,805	9,572	22,64	
	80 °C	LGG	7,627	8,991	17,89
80 °C	L150	7,014	9,185	30,95	
	Shirota	7,430	9,297	25,13	
	2142	7,281	8,628	18,51	
	N2	7,130	8,584	20,38	
	50 °C	LGG	7,314	8,938	22,21
	50 °C	L150	7,591	9,295	22,44
Shirota		7,501	9,372	24,95	
2142		7,257	8,896	22,58	
N2		7,851	9,514	21,18	

M7.3. táblázat: Központi elrendezésű kísérlettervezés a paradicsomlé pasztörözés idő (perc) és hőmérséklet (°C) optimalizációjára, az összcsíraszámot (log TKE/ml), mint függő változót alkalmazva

	Független változó (faktor)		Mért parameter (válasz)
	Idő (perc)	Hőmérséklet (°C)	Sejtszám (log TKE/ml)
1	10,0	60,0	1,699
2	60,0	60,0	0,000
3	10,0	90,0	0,000
4	60,0	90,0	0,000
5	35,0	53,8	1,000
6	35,0	96,2	0,000
7	0,0	75,0	2,477
8	70,4	75,0	0,000
9	35,0	75,0	1,477
10	35,0	75,0	1,477

M7.4. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő sejtszámról a Mobil paradicsomlében

	LGG	LA-5	L150	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,000	0,000	1,000	0,000	0,016	0,000	0,000	0,001
LA-5	0,000	-	1,000	0,000	0,814	0,064	0,945	0,000	0,414
L150	0,000	1,000	-	0,000	0,650	0,095	0,982	0,000	0,530
Reuteri	1,000	0,000	0,000	-	0,000	0,019	0,000	0,000	0,002
Shirota	0,000	0,814	0,650	0,000	-	0,000	0,108	0,000	0,010
LC-01	0,016	0,064	0,095	0,019	0,000	-	0,562	0,000	0,995
2142	0,000	0,945	0,982	0,000	0,108	0,562	-	0,000	0,977
N2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-	0,000
DT41	0,001	0,414	0,530	0,002	0,010	0,995	0,977	0,000	-

M7.5. táblázat: pH, összes oldott szervesanyag-tartalom (TSS) (%) és tirálható savtartalom (TA) (tejsavra (m/V%)) változás a fermentáció során a Mobil, az Uno Rosso és a Cherrola paradicsomlében

	Mobil			Uno Rosso			Cherrola		
	pH	TSS	TA	pH	TSS	TA	pH	TSS	TA
eredeti paradicsomlé	4,28	4,0	0,5044	4,34	5,0	0,6306	4,17	8,0	0,6666
LGG	3,72	3,8	0,6936	3,59	4,4	1,1530	3,88	7,2	1,4233
LA-5	3,65	3,4	0,9278	3,83	4,1	1,1981	-	-	-
L150	3,44	3,7	0,9098	3,64	4,4	1,3422	3,79	7,4	1,2972
Reuteri	3,92	3,7	0,6216	3,94	4,4	1,0990	-	-	-
Shirota	3,43	3,6	0,9729	3,61	4,4	1,3062	3,78	7,4	1,2251
LC-01	3,55	3,5	0,8377	3,76	4,3	1,3602	-	-	-
2142	3,43	3,5	0,9909	3,75	4,1	1,3512	3,83	7,1	1,3332
N2	3,46	3,6	0,9819	3,58	4,5	1,3602	3,76	7,3	1,2611
DT41	3,44	3,6	1,2611	3,59	4,4	1,3512	-	-	-

M7.6. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő pH-ra a Mobil paradicsomlében

	LGG	LA-5	L150	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,006	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
LA-5	0,006	-	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
L150	0,000	0,000	-	0,000	0,909	0,000	0,990	0,909	1,000
Reuteri	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Shirota	0,000	0,000	0,909	0,000	-	0,000	1,000	0,301	0,909
LC-01	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000
2142	0,000	0,000	0,990	0,000	1,000	0,000	-	0,491	0,990
N2	0,000	0,000	0,909	0,000	0,301	0,000	0,491	-	0,909
DT41	0,000	0,000	1,000	0,000	0,909	0,000	0,990	0,909	-

M7.7. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes oldott szárazanyag-tartalomra a Mobil paradicsomlében

	LGG	LA-5	L150	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,020	0,812	0,812	0,546	0,081	0,162	0,546	0,311
LA-5	0,020	-	0,162	0,162	0,311	0,972	0,812	0,311	0,546
L150	0,812	0,162	-	1,000	1,000	0,546	0,812	1,000	0,972
Reuteri	0,812	0,162	1,000	-	1,000	0,546	0,812	1,000	0,972
Shirota	0,546	0,311	1,000	1,000	-	0,812	0,972	1,000	1,000
LC-01	0,081	0,972	0,546	0,546	0,812	-	1,000	0,812	0,972
2142	0,162	0,812	0,812	0,812	0,972	1,000	-	0,972	1,000
N2	0,546	0,311	1,000	1,000	1,000	0,812	0,972	-	1,000
DT41	0,311	0,546	0,972	0,972	1,000	0,972	1,000	1,000	-

M7.8. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő titrálható savtartalomra a Mobil paradicsomlében

	LGG	LA-5	L150	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,882	0,918	1,000	0,765	0,991	0,711	0,739	0,116
LA-5	0,882	-	1,000	0,683	1,000	1,000	1,000	1,000	0,598
L150	0,918	1,000	-	0,739	1,000	1,000	1,000	1,000	0,542
Reuteri	1,000	0,683	0,739	-	0,542	0,918	0,488	0,515	0,065
Shirota	0,765	1,000	1,000	0,542	-	0,994	1,000	1,000	0,739
LC-01	0,991	1,000	1,000	0,918	0,994	-	0,987	0,991	0,344
2142	0,711	1,000	1,000	0,488	1,000	0,987	-	1,000	0,791
N2	0,739	1,000	1,000	0,515	1,000	0,991	1,000	-	0,765
DT41	0,116	0,598	0,542	0,065	0,739	0,344	0,791	0,765	-

M7.9. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő sejtszámra az Uno Rosso paradicsomlében

	LGG	LA-5	L150	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	1,000	0,005	0,462	0,000	0,122	1,000	0,000	0,240
LA-5	1,000	-	0,003	0,380	0,000	0,096	1,000	0,000	0,203
L150	0,005	0,003	-	0,000	0,859	0,948	0,000	0,000	0,820
Reuteri	0,462	0,380	0,000	-	0,000	0,000	0,553	0,000	0,001
Shirota	0,000	0,000	0,859	0,000	-	0,158	0,000	0,019	0,070
LC-01	0,122	0,096	0,948	0,000	0,158	-	0,030	0,000	1,000
2142	1,000	1,000	0,000	0,553	0,000	0,030	-	0,000	0,076
N2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,019	0,000	0,000	-	0,000
DT41	0,240	0,203	0,820	0,001	0,070	1,000	0,076	0,000	-

M7.10. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő pH-ra az Uno Rosso paradicsomlében

	LGG	LA-5	L150	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,004	0,886	0,000	1,000	0,030	0,049	1,000	1,000
LA-5	0,004	-	0,021	0,219	0,007	0,779	0,583	0,003	0,004
L150	0,886	0,021	-	0,001	0,990	0,186	0,298	0,836	0,926
Reuteri	0,000	0,219	0,001	-	0,000	0,025	0,015	0,000	0,000
Shirota	1,000	0,007	0,990	0,000	-	0,058	0,096	0,999	1,000
LC-01	0,030	0,779	0,186	0,025	0,058	-	1,000	0,025	0,035
2142	0,049	0,583	0,298	0,015	0,096	1,000	-	0,041	0,058
N2	1,000	0,003	0,836	0,000	0,999	0,025	0,041	-	1,000
DT41	1,000	0,004	0,926	0,000	1,000	0,035	0,058	1,000	-

M7.11. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes oldott szervesanyag-tartalomra az Uno Rosso paradicsomlében

	LGG	LA-5	L150	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,047	0,994	0,994	0,994	0,784	0,047	0,378	1,000
LA-5	0,047	-	0,016	0,016	0,016	0,378	1,000	0,002	0,047
L150	0,994	0,016	-	1,000	1,000	0,378	0,016	0,784	0,994
Reuteri	0,994	0,016	1,000	-	1,000	0,378	0,016	0,784	0,994
Shirota	0,994	0,016	1,000	1,000	-	0,378	0,016	0,784	0,994
LC-01	0,784	0,378	0,378	0,378	0,378	-	0,378	0,047	0,784
2142	0,047	1,000	0,016	0,016	0,016	0,378	-	0,002	0,047
N2	0,378	0,002	0,784	0,784	0,784	0,047	0,002	-	0,378
DT41	1,000	0,047	0,994	0,994	0,994	0,784	0,047	0,378	-

M7.12. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő titrálható savtartalomra az Uno Rosso paradicsomlében

	LGG	LA-5	L150	Reuteri	Shirota	LC-01	2142	N2	DT41
LGG	-	0,758	0,001	0,583	0,006	0,001	0,001	0,001	0,001
LA-5	0,758	-	0,009	0,076	0,049	0,004	0,006	0,004	0,006
L150	0,001	0,009	-	0,000	0,900	0,998	1,000	0,998	1,000
Reuteri	0,583	0,076	0,000	-	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000
Shirota	0,006	0,049	0,900	0,001	-	0,583	0,758	0,583	0,758
LC-01	0,001	0,004	0,998	0,000	0,583	-	1,000	1,000	1,000
2142	0,001	0,006	1,000	0,000	0,758	1,000	-	1,000	1,000
N2	0,001	0,004	0,998	0,000	0,583	1,000	1,000	-	1,000
DT41	0,001	0,006	1,000	0,000	0,758	1,000	1,000	1,000	-

M7.13. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő sejtszámra a Cherrola paradicsomlében

	LGG	L150	Shirota	2142	N2
LGG	-	0,448	0,999	0,102	0,979
L150	0,448	-	0,296	0,924	0,156
Shirota	0,999	0,296	-	0,053	0,998
2142	0,102	0,924	0,053	-	0,020
N2	0,979	0,156	0,998	0,020	-

M7.14. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő pH-ra a Cherrola paradicsomlében

	LGG	L150	Shirota	2142	N2
LGG	-	0,964	0,948	0,996	0,919
L150	0,964	-	1,000	0,998	1,000
Shirota	0,948	1,000	-	0,996	1,000
2142	0,996	0,998	0,996	-	0,989
N2	0,919	1,000	1,000	0,989	-

M7.15. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő összes oldott szárazanyag-tartalomra a Cherrola paradicsomlében

	LGG	L150	Shirota	2142	N2
LGG	-	0,908	0,908	1,000	0,983
L150	0,908	-	1,000	0,843	0,996
Shirota	0,908	1,000	-	0,843	0,996
2142	1,000	0,843	0,843	-	0,955
N2	0,983	0,996	0,996	0,955	-

M7.16. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő titrálható savtartalomra a Cherrola paradicsomlében

	LGG	L150	Shirota	2142	N2
LGG	-	0,983	0,920	0,995	0,958
L150	0,983	-	0,998	1,000	1,000
Shirota	0,920	0,998	-	0,990	1,000
2142	0,995	1,000	0,990	-	0,998
N2	0,958	1,000	1,000	0,998	-

M7.17. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a fermentációt követő, paradicsomfajtánként összesített sejtszámra

	Mobil	Uno Rosso	Cherrola
Mobil	-	0,000	0,040
Uno Rosso	0,000	-	0,004
Cherrola	0,040	0,004	-

M7.18. táblázat: *Lactobacillus* sejtszám (log TKE/ml) változás a Mobil paradicsomlében 4 hetes (6 °C) tárolás során

<i>Lactobacillus</i>	0. hét	1. hét	2. hét	3. hét	4. hét
LGG	7,993	7,792	7,747	7,903	7,824
LA-5	9,000	7,965	7,772	7,646	7,340
L150	8,987	7,782	7,000	7,401	7,153
Reuteri	7,176	6,818	6,518	4,067	3,896
Shirota	9,079	7,991	7,934	7,634	7,542
LC-01	8,762	8,804	8,672	8,918	8,796
2142	8,926	7,732	6,699	5,070	4,453
N2	9,251	8,402	6,699	4,959	4,667
DT41	8,895	7,659	6,699	6,149	5,098

M7.19. táblázat: *Lactobacillus* sejtszám (log TKE/ml) változás az Uno Rosso paradicsomlében 4 hetes (6 °C) tárolás során

<i>Lactobacillus</i>	0. hét	1. hét	2. hét	3. hét	4. hét
LGG	8,938	8,822	8,803	8,705	8,694
LA-5	8,945	8,908	8,637	7,097	5,419
L150	9,295	8,922	8,380	7,929	8,090
Reuteri	8,200	6,824	6,713	6,275	6,419
Shirota	9,372	9,038	8,759	8,569	8,501
LC-01	9,219	8,962	8,885	9,097	8,901
2142	8,896	9,065	8,485	8,021	6,620
N2	9,514	9,065	7,592	6,501	4,859
DT41	9,195	8,653	6,766	5,166	3,971

M7.20. táblázat: *Lactobacillus* sejtszám (log TKE/ml) változás a Cherrola paradicsomlében 4 hetes (6 °C) tárolás során

<i>Lactobacillus</i>	0. hét	1. hét	2. hét	3. hét	4. hét
LGG	9,130	9,376	8,668	8,331	8,517
L150	8,950	9,510	8,422	8,697	8,411
Shirota	9,154	8,937	8,598	8,832	8,632
2142	8,832	8,882	8,584	8,392	8,223
N2	9,177	9,108	8,315	8,183	7,893

M7.21. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a tárolást követő (4. hét), paradicsomfajtánként összesített sejtszámra

	LGG	L150	Shirota	2142	N2
LGG	-	0,000	0,803	0,000	0,000
L150	0,000	-	0,010	0,385	0,038
Shirota	0,803	0,010	-	0,000	0,000
2142	0,000	0,385	0,000	-	0,879
N2	0,000	0,038	0,000	0,879	-

M7.22. táblázat: pH, összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) (%) és tirálható savtartalom (TA) (tejsavra (m/V%)) változás a tárolás során a Mobil paradicsomlében

<i>Lactobacillus</i>	pH		TSS		TA	
	0. hét	4. hét	0. hét	4. hét	0. hét	4. hét
eredeti paradicsomlé	4,28	-	4,0	-	0,0050	-
LGG	3,72	3,75	3,8	3,75	0,6936	0,86
LA-5	3,65	3,76	3,4	3,55	0,9278	0,95
L150	3,44	3,64	3,7	3,75	0,9098	1,14
Reuteri	3,92	4,07	3,7	3,90	0,6216	0,73
Shirota	3,43	3,59	3,6	3,65	0,9729	1,10
LC-01	3,55	3,54	3,5	3,60	0,8377	1,14
2142	3,43	3,61	3,5	3,70	0,9909	1,22
N2	3,46	3,58	3,6	3,75	0,9819	1,17
DT41	3,44	3,64	3,6	3,75	1,2611	1,04

M7.23. táblázat: pH, összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) (%) és tirálható savtartalom (TA) (tejsavra (m/V%)) változás a tárolás során az Uno Rosso paradicsomlében

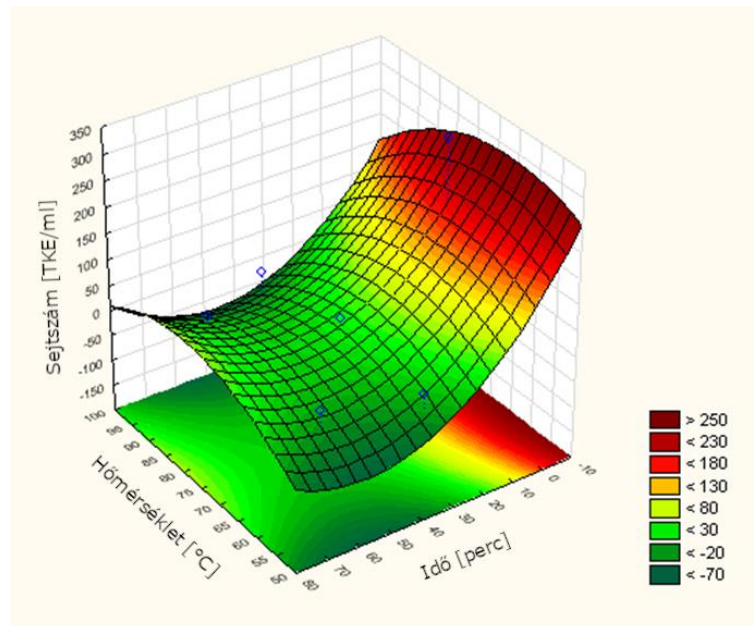
<i>Lactobacillus</i>	pH		TSS		TA	
	0. hét	4. hét	0. hét	4. hét	0. hét	4. hét
eredeti paradicsomlé	4,34	-	5,0	-	0,0063	-
LGG	3,59	3,59	4,4	4,50	1,1530	1,57
LA-5	3,83	3,84	4,1	4,35	1,1981	1,35
L150	3,64	3,60	4,4	4,60	1,3422	1,45
Reuteri	3,94	3,96	4,4	4,60	1,0990	1,10
Shirota	3,61	3,61	4,4	4,50	1,3062	1,48
LC-01	3,76	3,62	4,3	4,30	1,3602	1,66
2142	3,75	3,74	4,1	4,25	1,3512	1,44
N2	3,58	3,58	4,5	4,65	1,3602	1,47
DT41	3,59	3,61	4,4	4,60	1,3512	1,47

M7.24. táblázat: pH, összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) (%) és tirálható savtartalom (TA) (tejsavra (m/V%)) változás a tárolás során a Cherrola paradicsomlében

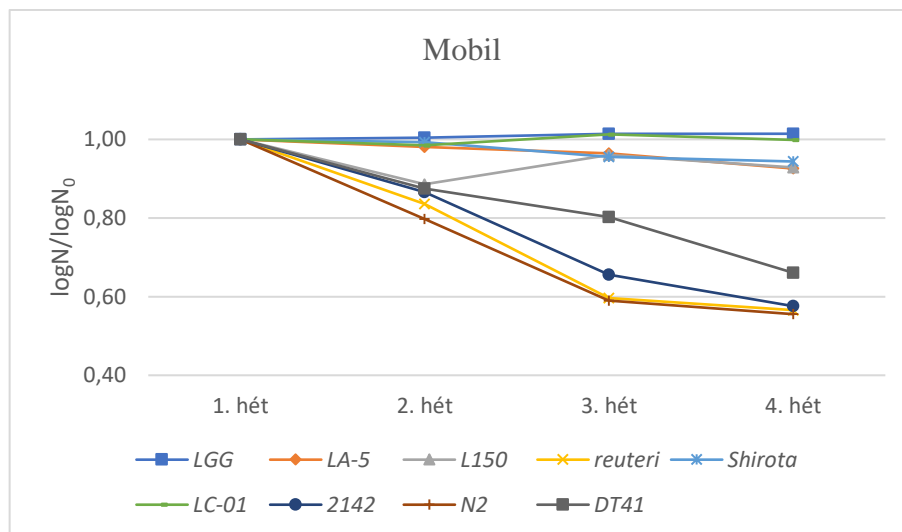
<i>Lactobacillus</i>	pH		TSS		TA	
	0. hét	4. hét	0. hét	4. hét	0. hét	4. hét
eredeti paradicsomlé	4,17	-	8,0	-	0,0067	-
LGG	3,88	3,68	7,2	7,30	1,4233	1,52
L150	3,79	3,63	7,4	7,45	1,2972	1,39
Shirota	3,78	3,60	7,4	7,70	1,2251	1,44
2142	3,83	3,74	7,1	7,60	1,3332	1,43
N2	3,76	3,63	7,3	7,80	1,2611	1,41

M7.25. táblázat: pH, összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) (%) és tirálható savtartalom (TA) (tejsavra (m/V%)) változás a 24 órás fermentáció során a 15 fajta paradicsomlében

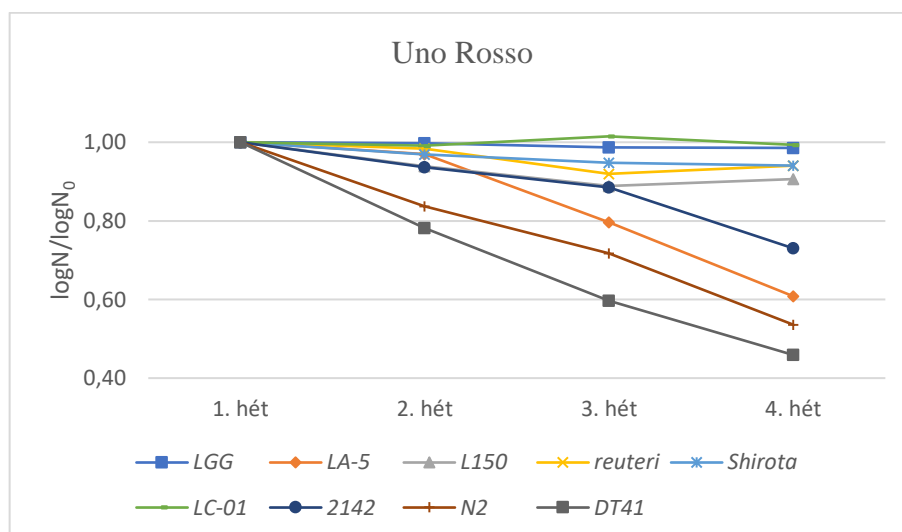
Paradicsom	ph			TSS			TA		
	0 h	N2	Shirota	0 h	N2	Shirota	0 h	N2	Shirota
452	4,15	3,66	3,69	5,1	4,3	4,2	0,5405	1,7385	1,6485
455	4,15	3,65	3,66	4,0	3,2	3,3	0,6666	1,5674	1,5404
458	4,24	3,73	3,58	4,1	3,3	3,5	0,7206	1,3692	1,5494
461	4,28	3,71	3,59	4,9	4,2	4,5	0,7927	1,5854	1,6665
463	4,15	3,66	3,60	4,2	3,4	3,5	0,7206	1,5854	1,5404
464	4,31	3,75	3,62	5,1	4,4	4,4	0,7387	1,4593	1,4683
465	4,37	3,83	3,76	4,3	3,7	3,8	0,7026	1,3452	1,2311
467	4,13	3,55	3,58	4,2	3,3	3,2	0,5945	1,3782	1,4863
469	4,31	3,85	3,86	5,2	4,5	4,7	0,6846	1,3272	1,2671
470	4,25	3,63	3,65	3,9	3,1	2,9	0,4504	1,5224	1,5133
472	4,30	3,75	3,75	5,2	4,6	4,7	0,7747	1,4593	1,3872
473	4,28	3,68	3,66	3,8	3,2	3,1	0,3243	1,3512	1,4143
475	4,32	4,02	3,94	6,5	6,1	6,0	1,0269	1,3332	1,4113
477	4,29	3,73	3,60	3,0	3,1	3,3	0,5765	1,1080	1,2881
479	4,14	3,67	3,53	4,8	4,4	4,6	0,9098	1,5944	1,6304



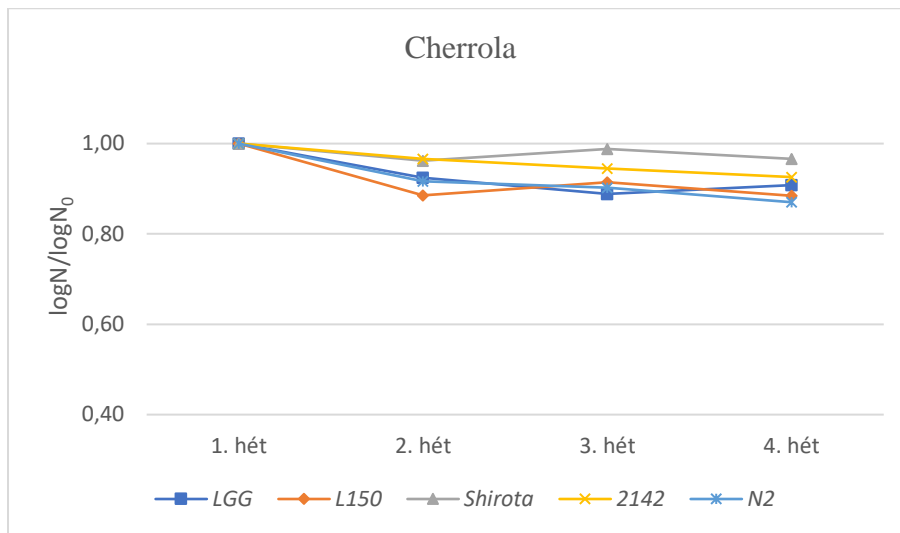
M7.1. ábra: Válaszfelület diagram a paradicsomlé összcsíraszámának (log TKE/ml) minimalizálása érdekében, a kezelési idő (perc) és hőmérséklet (°C) függvényében



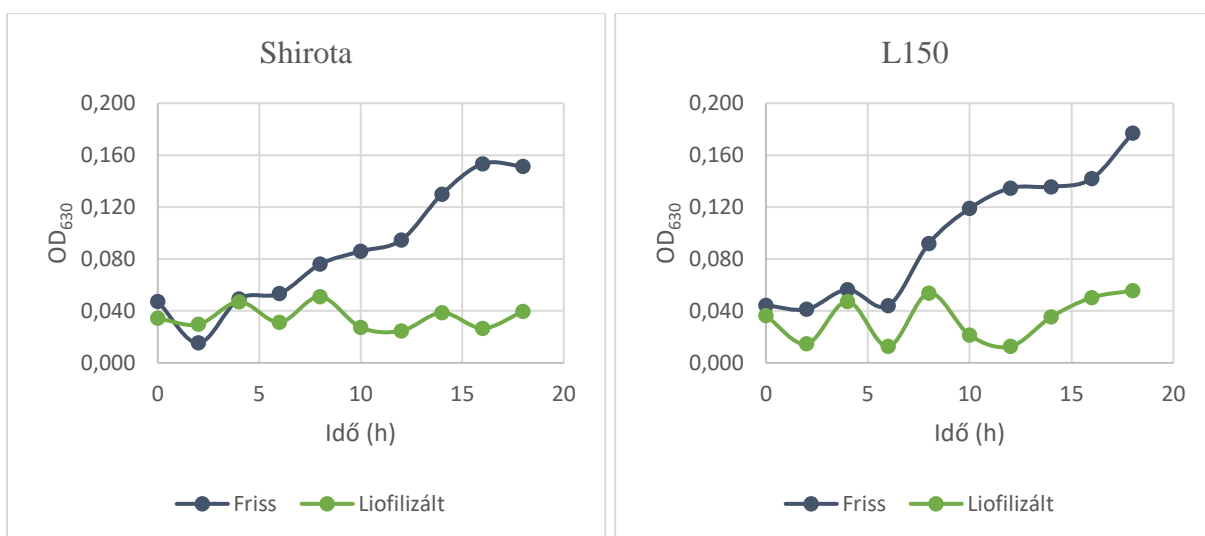
M7.2. ábra: *Lactobacillus* sejtek túlélési aránya a tárolás során Mobil paradicsomlében



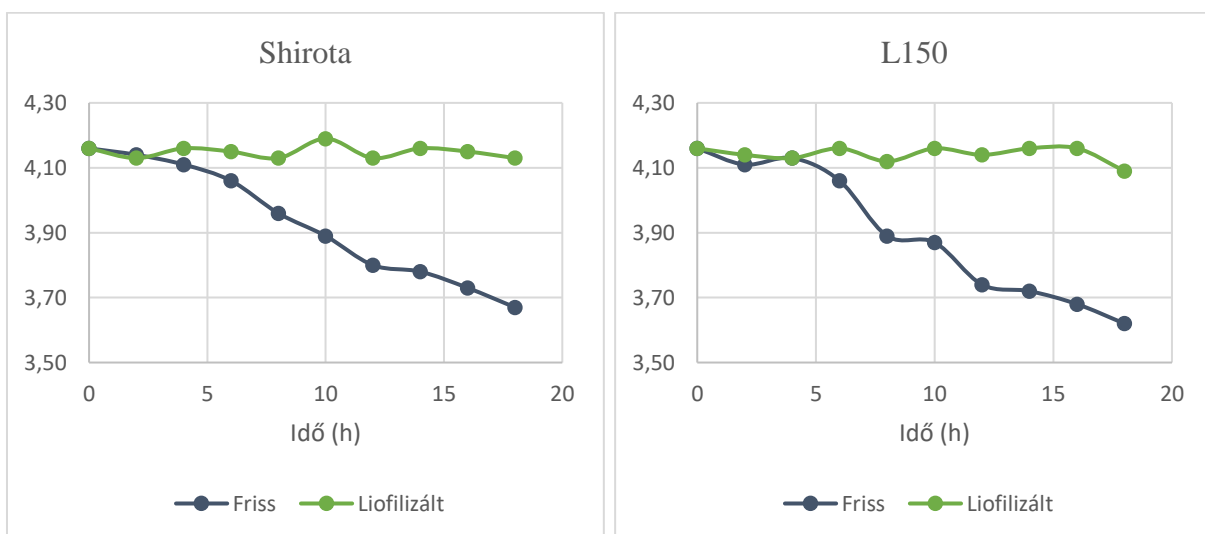
M7.3. ábra: *Lactobacillus* sejtek túlélési aránya a tárolás során Uno Rosso paradicsomlében



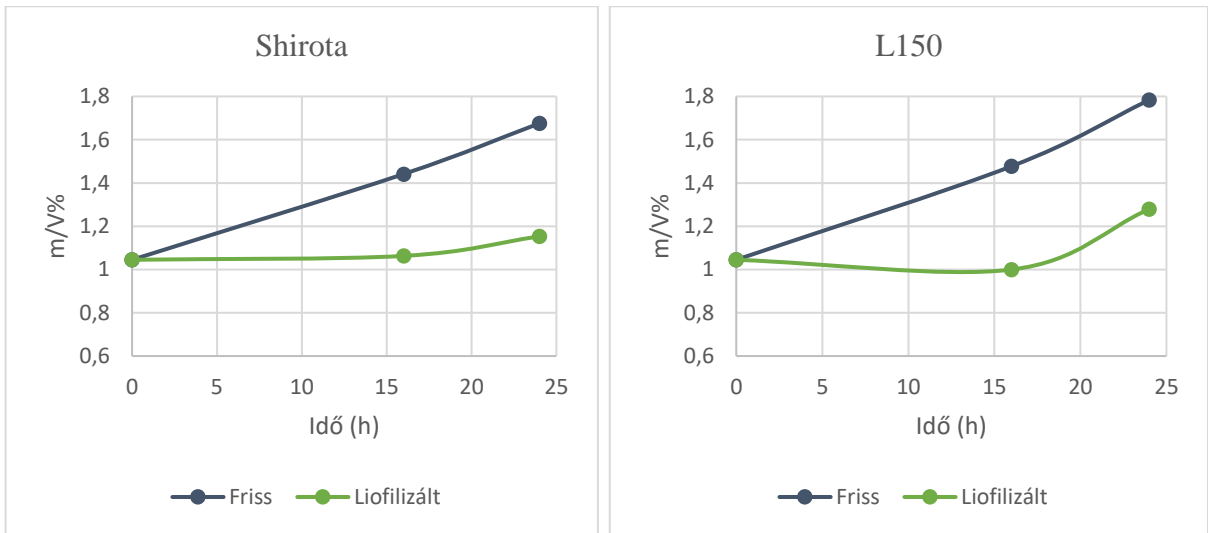
M7.4. ábra: *Lactobacillus* sejtek túlélési aránya a tárolás során Cherrola paradicsomlében



M7.5. ábra: *L. casei* Shiota (Shiota) és *L. acidophilus* 150 (L150) 630 nm-en mért optikai denzitás változása az idő függvényében (h) a (476-os) paradicsomlé fermentációja során



M7.6. ábra: (476-os) paradicsomlé pH változása a *L. casei* Shiota (Shiota) és *L. acidophilus* 150 (L150) liofilizált és friss tenyészet starterkulturaként történő alkalmazásával



M7.7. ábra: (476-os) paradicsomlé titrálható savtartalom változása a *L. casei* Shiota (Shirota) és *L. acidophilus* 150 (L150) liofilizált és friss tenyészet starterkulturaként történő alkalmazásával

M8. *Lactobacillus* primerek

A PCR során a *Lactobacillus* felsokszorozott szakasza

IFL 5'→3'	5'-AGAAGAGGACAGTGGAAC-3'
IFR 3'→5' komplementer	3'-CACACCATGAGAGTTTGTAA-5'

Lactobacillus plantarum SN35N DNA, complete genome GenBank: AP018405.1

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AP018405.1?report=fasta>

```
TAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCG
AGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAAACTGGG
AACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAAC
ACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACGACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGGA
TTAGATACCCTGGTAGTCCATACCCTGTAACGATGAATGCTAAGTGTGGAGGGTTTTCCGCCCTTCAGTGC
TGCAGTAACGCATTAAGCATCCGCCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACA
TACTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTC
AGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATT
AGTTGGGCACTCTGGTGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGC
CCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGC
TAATCTCTTAAAGCCATTTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGGAATCGCTAG
TAATCGCGGATCAGCATGCCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACACCATGAG
AGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGCTAAGGTGGGACAGATGATTA
GGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCCTGCGGCTGGATCACCTCCTTTCTAAGGAATATTAC
GAAACCTACACACGCGTCGAAACCTTTGTTTAGTTTTGAGAGATTTAACTCTCAAACCTTGTCTTTGAA
```

767 bázispár

Lactobacillus paracasei IJH-SONE68 DNA, complete genome GenBank: AP018392.1

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AP018392.1?report=fasta>

```
AACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAT
TTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGAGGAA
GCGCATCGGAAACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCG
TAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACGACGCTGAGGCTCGAAAGC
ATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGAATGCTAGGTGTTGGAGGG
TTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAA
CTCAAAGGAATTGACGGGGGCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAAC
CTTACCAGGCTTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAAATGACAGGT
GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGCAACGAGCGCAACCCTTATG
ACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACCTTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATG
ACGTCAAATCATATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCG
AGACCGGAGGTCAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACAC
GAAGTCGGAATCGTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACC
GCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACCCGAAGCCGGTGGCGTAACCCTTTTAGGGAGCGAGCCGTCT
AAGGTGGGACAAATGATTAGGGTGAAGTCGTAACAAGGTAGCCGTAGGAGAACCCTGCGGCTGGATCACCT
CCTTTCTAAGGAAACAGACTGAAAGTCTGACGGAAACCTGCACACACGAAACCTTTGTTTAGTTTTGAGGG
```

767 bázispár

M9. *Lactobacillus*-ok szelekciója

M9.1. táblázat: Tukey-féle post hoc teszt a 24 órás fermentációt követő sejtszámra a 476-os paradicsomlében

	LGG	Shirota	LC-01	Reuteri	LA-5	L150	2142	DT41
LGG	-	0,521	1,000	0,998	1,000	0,045	0,505	0,021
Shirota	0,521	-	0,882	0,995	0,859	0,999	1,000	0,988
LC-01	1,000	0,882	-	1,000	1,000	0,170	0,861	0,087
Reuteri	0,998	0,995	1,000	-	1,000	0,499	0,992	0,317
LA-5	1,000	0,859	1,000	1,000	-	0,152	0,837	0,076
L150	0,045	0,999	0,170	0,499	0,152	-	1,000	1,000
2142	0,505	1,000	0,861	0,992	0,837	1,000	-	0,998
DT41	0,021	0,988	0,087	0,317	0,076	1,000	0,998	-
Kimchi (retek)	0,117	1,000	0,363	0,761	0,332	1,000	1,000	1,000
Olívabogyó 1	0,883	1,000	0,996	1,000	0,994	0,928	1,000	0,806
Olívabogyó 2	0,004	0,790	0,018	0,089	0,016	1,000	0,897	1,000
Kovászos uborka (házi)	0,964	0,005	0,571	0,212	0,607	0,000	0,006	0,000
Kovászos uborka (bolti), zöldség	1,000	0,062	0,974	0,747	0,981	0,001	0,067	0,000
Kovászos uborka (bolti), lé	0,420	1,000	0,806	0,986	0,777	1,000	1,000	0,996
Savanyú káposzta, zöldség	1,000	0,842	1,000	1,000	1,000	0,159	0,819	0,083
Savanyú káposzta, lé	1,000	0,820	1,000	1,000	1,000	0,127	0,798	0,062
	Kimchi (retek)	Olívabogyó 1	Olívabogyó 2	Kovászos uborka, (házi)	Kovászos uborka (bolti), zöldség	Kovászos uborka (bolti), lé	Savanyú káposzta, zöldség	Savanyú káposzta, lé
LGG	0,117	0,883	0,004	0,964	1,000	0,420	1,000	1,000
N2	0,002	0,083	0,000	1,000	1,000	0,014	0,782	0,709
Shirota	1,000	1,000	0,790	0,005	0,062	1,000	0,842	0,820
LC-01	0,363	0,996	0,018	0,571	0,974	0,806	1,000	1,000
Reuteri	0,761	1,000	0,089	0,212	0,747	0,986	1,000	1,000
LA-5	0,332	0,994	0,016	0,607	0,981	0,777	1,000	1,000
L150	1,000	0,928	1,000	0,000	0,001	1,000	0,159	0,127
2142	1,000	1,000	0,897	0,006	0,067	1,000	0,819	0,798
DT41	1,000	0,806	1,000	0,000	0,000	0,996	0,083	0,062
Kimchi (retek)	-	0,992	0,996	0,000	0,005	1,000	0,334	0,288
Olívabogyó 1	0,992	-	0,395	0,033	0,263	1,000	0,991	0,990
Olívabogyó 2	0,996	0,395	-	0,000	0,000	0,866	0,018	0,012
Kovászos uborka (házi)	0,000	0,033	0,000	-	1,000	0,003	0,766	0,661
Kovászos uborka (bolti), zöldség	0,005	0,263	0,000	1,000	-	0,041	0,995	0,988
Kovászos uborka (bolti), lé	1,000	1,000	0,866	0,003	0,041	-	0,760	0,729
Savanyú káposzta, zöldség	0,334	0,991	0,018	0,766	0,995	0,760	-	1,000
Savanyú káposzta, lé	0,288	0,990	0,012	0,661	0,988	0,729	1,000	-

M9.2. táblázat: pH, összes oldott szárazanyag-tartalom (TSS) (%) és tirálható savtartalom (TA) (tejsavra (m/V%) változás a fermentáció során a 476-os paradicsomlében

<i>Lactobacillus</i>	pH	TSS	TA
eredeti paradicsomlé	4,19	6,2	1,0449
LGG	3,77	5,4	1,8376
Shirota	3,57	5,8	1,6935
LC-01	3,76	5,4	1,8016
Reuteri	3,59	5,6	1,8556
LA-5	3,77	5,2	1,8016
L150	3,55	5,7	1,8196
2142	3,60	5,7	1,8196
DT41	3,55	5,7	1,8016
Kimchi	3,56	5,9	1,7656
Olívbogyó 1	3,57	5,8	1,6935
Olívbogyó 2	3,59	5,7	1,6214
Kovászos uborka (házi)	4,00	5,9	1,3152
Kovászos uborka (bolti), zöldség	3,51	5,9	1,7476
Kovászos uborka (bolti), lé	3,51	5,9	1,6034
Savanyú káposzta, zöldség	3,55	5,7	1,6395
Savanyú káposzta, lé	3,54	5,7	1,6755

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani mindenkinek, aki segítette, támogatta, észrevételezte vagy türelmével elviselte a doktori értekezésem elkészítését.

Elsősorban köszönettel tartozom Dr. Zalán Zsolt témavezetőm odaadó munkájáért. Szakmai tudásával, ötleteivel, útmutatásával és türelmével nagyban hozzájárult doktori munkám elkészítéséhez.

Köszönetet szeretnék mondani az egykori NAIK – Élelmiszert-tudományi és Kutatóintézetben, jelenleg MATE – Élelmiszertudományi és Technológiai Intézetben minden jelenlegi és volt munkatársamnak a közös munkáért, a javaslatokért és technikai segítségéért. Külön köszönet illeti Dr. Hegyi Ferencet, Nagyné Dr. Gasztonyi Magdolnát és Pék Józsefet, akik segítették a kísérletek sikeres elvégzését.

Köszönöm a NAIK – KUEP vezetőségének, hogy a Kutatói utánpótlást elősegítő program keretein belül lehetőségem volt kutatói pályámat kibontakoztatnom.

Végül pedig, de nem utolsó sorban köszönetet mondanék férjem és családom támogatásáért, kisfiamnak pedig az átaludt éjszakákért.