



Élelmiszertudományi Kar

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**NEM TEJALAPÚ PROBIOTIKUS ÉLELMISZEREK
ELŐÁLLÍTÁSI LEHETŐSÉGEINEK MEGALAPOZÁSA**

KUN SZILÁRD

BUDAPEST
2008

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

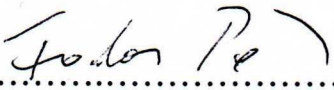
tudományága: Élelmiszertudományok

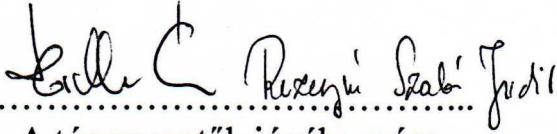
vezetője: Dr. Fodor Péter, DSc
egyetemi tanár
Budapesti Corvinus Egyetem

Témavezetők: Rezessyné dr. Szabó Judit
egyetemi docens
Dr. Hoschke Ágoston
egyetemi tanár
Sör- és Szeszipari Tanszék
Élelmiszertudományi Kar
Budapesti Corvinus Egyetem

A doktori iskola- és a témavezető jóváhagyó aláírása:

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, a műhelyvita során elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés védési eljárásra bocsátható.


.....
Az iskolavezető jóváhagyása


.....
A témavezetők jóváhagyása

A MUNKA ELŐZMÉNYEI ÉS CÉLKITŰZÉSEI

A gazdasági és a társadalmi fejlődés eredményeként megváltozott értelmet nyert a táplálkozás fogalma. Ma már a táplálkozás nem csupán azt jelenti, hogy szervezetünk számára biztosítsuk a létfontosságú tápanyagokat és energiaforrást, hanem a kínálati piacon válogathatunk az élelmiszerek között megjelenésük, élvezeti és tápértékük alapján is. A XX. század végétől a fejlett gazdasággal rendelkező országokban az élelmezés fő célja az, hogy kiegyensúlyozott tápanyag bevitelt szolgáltatson az emberi szervezet anyagcseréjéhez, megakadályozva az egyes komponensekre nézve a hiány, illetve a káros többlet kialakulásának lehetőségét, ezáltal biztosítva a fogyasztók jó közérzetét. Egyes társadalmi rétegek, mint például a fiatalabb nemzedék és az értelmiségiek gondot fordítanak a táplálék beltartalmi értékére, és kialakulóban van az igény egy egészség tudatosabb táplálkozásra.

Az analitikai módszerek fejlődése lehetővé teszi az élelmiszerek pontos kémiai összetételének meghatározását és az egyes komponensek fiziológiai hatásainak értékelését. A fenti koncepcióból kiindulva alkották meg a funkcionális élelmiszerek fogalmát. A funkcionális élelmiszerek a tápértéken kívül rendelkeznek olyan tulajdonságokkal is, amelyek bizonyítottan pozitív élettani hatást gyakorolnak a szervezetre.

A funkcionális élelmiszerek kutatása, tervezése és bevezetése az élelmiszer-feldolgozásba az egyik legdinamikusabban fejlődő terület. Ahhoz, hogy a mindennapi élelmiszerek csoportján belül e termékek elkülöníthetőek legyenek, tudományos érvek szükségesek, amelyek bizonyítják az egészségjavító élettani hatást. E bizonyítékok lehetőséget teremtenek arra, hogy ezen élelmiszereken feltüntethetők olyan állítások, amelyek tájékoztatják a fogyasztókat az egészségi hatásokról. A legrégebben fogyasztott funkcionális élelmiszerek egyike a probiotikumokat tartalmazó tejtermékek, amelyek még ma is uralják a probiotikumok piacát.

Az élelmiszer nem jelenthet veszélyt a fogyasztóra nézve. Az élelmiszerbiztonságnak ki kell terjedni azon fogyasztói rétegekre is, akik valamilyen táplálkozással összefüggő rendellenességben szenvednek. Számukra is elérhetővé kell tenni a probiotikus termékeket, hogy ne kelljen lemondaniuk a probiotikumok nyújtotta egészségügyi előnyökről. A jövő funkcionális élelmiszereinek egyénre szabottnak kell lennie és ki kell, hogy elégítse annak genetikai és biokémiai igényét. Ilyen genetikai eredetű egészségi probléma lehet a tejérzékenység, amelynek oka a laktóz intolerancia, vagy a tejfehérje allergia. E fogyasztói csoportok csak korlátozott mértékben, illetve egyáltalán nem fogyaszthatnak tejet vagy tejtermékeket.

A fenti motivációtól vezérelve választottam doktori kutatásaim témájaként a nem tejalapú probiotikus termékek előállításának technológiájának fejlesztését. A kidolgozandó technológiához különböző növényi eredetű nyersanyagokat választottam. A technológia fejlesztés számos

alap- és alkalmazott kutatási feladat megoldását igényli és ezek figyelembevételével fogalmaztam meg a kidolgozandó témaköröket.

CÉLKITÚZÉSEIM:

- Bifidobaktérium törzsek fiziológiai tulajdonságainak tanulmányozása
 - Vancomycin és hidrogén-peroxid érzékenységük vizsgálata
 - Rangsorolásuk oxigén toleranciájukra nézve
 - Szénhidrátok hasznosításának feltérképezése
 - Maillard-reakcióból származó vegyületek hatásának értékelése
- Bifidobaktérium törzsek antimikrobás hatásának kimutatása és az ebben szerepet játszó anyagcsere termékek meghatározása
- Bifidobaktérium törzsek bélhámsejtekhez történő *in vitro* adherenciájának vizsgálata szövettenyészetek alkalmazásával
- Különböző növényi nyersanyagokból előállított levek bifidobaktérium törzsekkel való erjeszthetőségének meghatározása
 - Kíméletes előkezelési technológiák összehasonlító elemzése az eredeti mikrobapopuláció csökkentésére
 - A laktofermentáció környezeti paramétereinek optimalítása a maximális bifidobaktérium sejtszám elérésére
 - Fermentációs technológiák kidolgozása növényi alapú probiotikus termék létrehozásához
- Vegyes kultúrás fermentációk lehetőségének vizsgálata bifidobaktérium törzs és tejsavbaktériumok társításával
 - Fermentációs technológia kidolgozása és léptéknövelése
- A laktofermentációval előállított fermentátum formulázása és tárolási stabilitásának meghatározása

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A vizsgálataimhoz 29 *Bifidobacterium*, 8 *Lactobacillus* és 7 potenciális kórokozó törzset alkalmaztam. A *Bifidobacterium* törzsek a Budapesti Corvinus Egyetem Sör- és Szeszipari Tanszékének törzsgyűjteményéből és a Chr. Hansen-től, a *Lactobacillus* törzsek a KÉKI Biológiai Osztály törzsgyűjteményéből, a potenciális kórokozó törzsek (teszt törzsek) pedig a Budapesti Corvinus Egyetem Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék törzsgyűjteményéből származtak. A tapadási vizsgálatoknál alkalmazott Caco-2, HT29 és HT29-12 sejtkultúrák a Szent István Egyetem Élettan Tanszékéről származtak. A prebiotikumok hasznosítási vizsgálatánál frukto-oligoszacharidokat (Raftiline, Raftilose), laktoszukrózt, izomalto-oligoszacharidokat (Oligo Time, Oligo MT-500, Isomalto-500) és xilo-oligoszacharidokat (Xylo-oligo 70, Xylo-oligo 95P) alkalmaztam. A Maillard-reakció termékek hatásának vizsgálatánál kakaó és kenyér eredetű melanoidineket használtam, amelyeket a Bécsi Egyetem, Táplákozástudományi Tanszékéről kaptam. Az erjesztési kísérletek során sárgarépa-, cékla-, és csicsókalevet használtam.

Bifidobaktériumok fiziológiai vizsgálatához felhasznált módszerek

A vancomycin rezisztencia, a hidrogén-peroxid gátló koncentrációjának meghatározásánál és a melanoidinek hatásának vizsgálatánál agardiffúziós és határhígítós módszereket alkalmaztam. Az oxigéntoleranciát tenyésztéssel vizsgáltam, ahol a stacioner fázisban lévő törzseket aerob körülmények között inkubáltam és az élő sejtszám változását követtem. A bifidobaktériumok szénhidrát hasznosításának vizsgálatához optikai denzitás mérést és lemezöntéses módszert használtam.

Bifidobaktériumok antimikrobás hatásának vizsgálata során használt módszerek

Az antimikrobás hatás kimutatására kétrétegű spot módszert és agardiffúziós módszert alkalmaztam. A kétrétegű spot módszer során az alsó agarra felvittem a bifidobaktérium szuszpenziót (pöttyöket), majd 18 órás inkubálás után teszt törzsszel beoltott fedőaggarral fedtem le, és újabb inkubálás után az értékelést a kapott feltisztulási zónák alapján végeztem. Az antimikrobás anyag fehérjemintázataról, valamint ezek molekulatömegéről SDS-PAGE gélelektroforézissel szereztem információt, amelynél a következő paramétereket alkalmaztam: 15-20%-os gradiens gélt és 6%-os gyűjtőgélt, 200 V, 500 mA induló, 200 V, 14 mA vég paramétereket, és 30 perces futtatási időt. A sejtmentes tenyészlevek fehérjéinek gátló hatását blotolással vizsgáltam, ahol a megfuttatott gélt teszt törzset tartalmazó agar réteg közé helyeztem. A *B. longum* A4.8 törzs esetén a 20 egyedi fehérjefrakciót rotofor IEF Cell készülék segítségével nyertem, amely a fehérjéket izoelektromos pontjuk alapján választja el. Az egyedi fehérjefrakciók gátló hatását agardiffúziós módszerrel vizsgáltam.

Tapadási vizsgálatok módszerei

A sejt kultúrákat 24 lyukú sejtenyésző edényekben tenyésztettem (Caco-2 14 napig, HT29 és HT29-12 72 órán keresztül). A sejt kultúrák mosása után helyeztem rá a kívánt koncentrációjú baktérium szuszpenziót, majd ezt 60 percig, 37°C-os, 5% CO₂-t tartalmazó termosztátban inkubáltam. Ezután a detektálási módszernek megfelelően vagy eltávolítottam a megtapadt baktériumokat, vagy fixáltam a sejtekkel együtt. A tapadó baktériumok mennyiségének meghatározására különböző detektálási módszereket alkalmaztam: lemezöntés (különböző tápagarok használatával), Gram-festés (GRAM-color Staining Set, Merck), és hexidium-jodidos festés (LIVE BacLight™ Bacterial Gram Stain Kit).

Erjesztési kísérletek

A zöldséglevelek előkezelését hőkezeléssel és nagy hidrosztatikus nyomású kezeléssel végeztem. Mind a mono, mind a vegyes kultúrák erjesztéseket 10⁶-10⁷ tke/ml sejt számmal indítottam. A vegyes kultúrák erjesztés esetében a bifidobaktériumot és a laktobacillust 1:1 arányban alkalmaztam. Az erjesztéseket 37°C-on anaerob körülmények között végeztem, amelyet anaerob kamrában (Bugbox, Ruskin Technology), vagy anaerob Jar+GasPak rendszerben (Oxoid) állítottam elő. A léptéknövelési kísérleteket 2 liter hasznostérfogatú Biostat B (BBraun) fermentorban végeztem, ahol az anaerob környezetet szén-dioxid, nitrogén gázelegy (10% CO₂ és 90% N₂) átáramoltatásával biztosítottam. A tárolási kísérletek 4°C-on és szobahőmérsékleten jól zárható üvegekben történtek. A vegyes kultúrával erjesztett csicsókalé tárolási vizsgálata előtt a termék állományának kialakítására és a vízaktivitás csökkentésére különböző pektineket (Herbstreith & Fox Kft.): almapektineket (Pectin Classic AJ 201, AJ202, AF703, AU202), citruspektineket (Pectin Classic CJ201, CJ206), és nátrium-alginátot (Satalgine 550, KUK Hungaria Kft.) használtam.

Mikrobiológiai vizsgálatok

A mikroorganizmusok mennyiségi meghatározására különböző tápagarokat alkalmaztam: *Bifidobacterium*-ok – TPY és Beerens' agar; Tejsavbaktériumok – MRS agar; Mezofil aerob összcsíraszám – TGE agar; Szulfít-redukáló baktériumok – Vas-szulfít agar; Enterobaktériumok – VRBD agar; *Coliform*-ok – Fekál Koliform agar; *Pseudomonas*-ok – *Pseudomonas* szelektív agar; Élesztőgombák és penészgombák – RBC agar.

Analitikai módszerek

Szénhidrát, szerves sav és a karotinoid tartalom mennyiségi meghatározása HPLC-vel történt.

AZ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

A célkitűzésekben megfogalmazott termékfejlesztési feladat megvalósításához törzs szelekciós kísérleteket végeztem, amelynek keretében meghatároztam a bifidobaktérium törzsek fiziológiai tulajdonságait, antimikrobás hatásukat, valamint a törzsek bélhámsejtekhez történő tapadását. Továbbá meghatároztam az előkezelési technológiák paramétereit, megvizsgáltam a törzsek erjesztő, illetve szaporodó képességét különböző zöldséglevelekben és a fermentációs technológia kidolgozásának lehetőségét mono és vegyes kultúras erjesztések során. Végül célom volt a léptéknövelés megvalósítása és a tárolási vizsgálatok elvégzése.

Bifidobaktériumok fiziológiai vizsgálata

Elsődleges szelekciós kritériumként a probiotikus bifidobaktériumok vancomycin rezisztenciáját térképeztem fel. A vancomycin gátló hatása kiemelkedően fontos, mert ez az egyik olyan antibiotikum, amely széles hatásspektrummal rendelkezik a klinikai fertőzéseket okozó patogénekkal szemben. Vizsgálataim alapján az összes tesztelt törzs érzékenynek bizonyult a vancomycinnel szemben. Az agardiffúziós módszer alkalmazásával 18 és 44 mm közötti feltisztulási zónákat, a határhígításos módszernél 0,75-3,0 µg/ml közötti minimális gátló koncentrációkat (MIC) detektáltam.

Mivel a bifidobaktériumok kataláz negatívak, ezért fontos információt szerezni a hidrogén-peroxid toleranciájukra vonatkozóan, amely vegyes kultúrák alkalmazásánál merülhet fel, mint szelekciós kritérium. A legellenállóbbak a *Bifidobacterium lactis* Bb-12 és *B. bifidum* B7.1 jelzésű törzsek voltak, amelyeknél TPY táplevesben határhígításos módszerrel a MIC értéke 200 µg/ml-nek adódott. A legnagyobb érzékenységet a *B. longum* B2.2 törzs mutatta, amelynél MIC értéként 100 µg/ml koncentrációt határoztam meg. Ezen eredmények ígéretesek a tejsavbaktériumokkal és a bifidobaktériumokkal történő vegyes kultúras erjesztések szempontjából.

Megvizsgáltam a bifidobaktérium törzsek oxigén toleranciáját, amely fontos tényezőként jelentkezik a fermentációs technológia kidolgozása, illetve léptéknövelése során. A késő logaritmusos szaporodási szakaszban lévő törzsek közül 24 órás aerob hatásnak kitett sejtek száma a *B. breve*^T, *B. lactis* Bb-12, *B. dentium* B2.1, *B. bifidum* B7.1, *B. longum* A4.4, A4.8 és a *B. bifidum* B1.2 törzsek esetén egy nagyságrenden belül maradt, de 96. óra után a vizsgált törzsek életképessége jelentősen lecsökkent.

A törzsek szénhidrát (mono-, di-, oligo-, és poliszacharidok) hasznosításának megismerése alapul szolgálhat a megfelelő tápközeg (nyersanyag) kiválasztásához, illetve a poli- és oligoszacharidok prebiotikus hatásának igazolásához. A vizsgált törzsek a glükózt, a laktózt, a szacharózt és a maltózt általában jól hasznosították növekedési szubsztrátumként, míg a fruktózt kevésbé. A vizsgált *Bifidobacterium* törzsek közül a *B. adolescentis* és a *B. lactis* Bb-12 törzs az összes vizsgált prebiotikumot jobban hasznosította, mint a glükózt. Vizsgálataim szerint a potenciális kórokozó

baktériumok a glükóznál rosszabbul hasznosították a Raftiline-t és a xilo-oligoszacharidokat. Ezek alapján megállapítható, hogy a prebiotikumok hasznosítása fajon belül is eltérést mutat, mind a bifidobaktérium, mind egyéb baktérium törzsek esetén, így ez törzsfüggő tulajdonságnak tekinthető. Sikerült a vegyes kultúrák modellrendszer alapjait megteremteni, ahol értékelhető a kereskedelmi forgalomból származó poli- és oligoszacharidok prebiotikus hatása.

A Maillard-reakció termékei az előkezelések során keletkezhetnek, ezért cél volt e reakció termékek hatásának feltárása a bifidobaktérium törzsekre. Eredményeim arra engednek következtetni, hogy a melanoidinek bizonyos mértékben gátolják a bifidobaktériumok szaporodását és a gátlás mértéke függ az adott törzstől és a melanoidinek molekulatömegétől.

Bifidobaktériumok antimikrobás hatása

Vizsgáltam a törzsek antimikrobás hatását, illetve a fehérjetermészetű gátlóanyag termelésüket, amelynek szerepe lehet az élelmiszerek biológiai tartósításában.

A kétrétegű spot módszer eredményei azt mutatták, hogy több *B. longum* és *B. bifidum* törzs erőteljes gátlást fejtett ki különösen az *Escherichia coli* ATCC 8439, az *Escherichia coli* O157:H7, az *Enterococcus faecalis*, valamint a *Listeria monocytogenes* 4ab törzsek szaporodására. Továbbá megállapítottam, hogy csupán a *B. longum* A4.8 törzs fejtett ki antagonista hatást a *Lactobacillus* törzsek közül a *Lactobacillus acidophilus* La-5 és *Lactobacillus casei* subsp. *casei* 2756 törzsre, míg a *B. bifidum* B5.1 törzs csupán a *Lb. acidophilus* La-5 törzs szaporodását gátolta, amely a többkomponensű starterkultúrák tervezése szempontjából kedvező eredményként értékelhető. Eredményeim rávilágítottak arra is, hogy a törzsek antimikrobás anyag termelése függ a tenyésztési körülményektől is. A blot módszer eredményei szintén megerősítették, hogy egyes bifidobaktérium törzsek felülűszói antimikrobás hatású fehérjéket tartalmaznak. A *B. longum* A4.8 jelű törzs esetén végzett rotoforos elválasztás után kapott 20 egyedi frakció közül a kettes frakció az *Enterobacter cloacae* kivételével, gátolta a teszt törzsek szaporodását, amely egyértelműen fehérjetermészetű antimikrobás anyag jelenlétére utal.

Bifidobaktériumok tapadási vizsgálata

A szervezet és a baktériumok közötti kölcsönhatás, illetve kommunikáció kialakulásához szükséges a baktériumok tapadása a bélhámsejthez. Ebből a gondolatból kiindulva megvizsgáltam a bifidobaktérium törzsek tapadását Caco-2 sejtvonalhoz, ahol a legjobb tapadó képességet a *B. lactis* Bb-12 (20,5%), a *B. bifidum* B3.2 (9,5%), a *B. bifidum* B7.1 (7%) és a *B. longum* A4.9 (6%) törzs mutatta. A kiindulási sejtkoncentráció növelésével arányosan növekszik a tapadó baktériumok száma, viszont az is megállapítható, hogy a tapadó baktériumok százalékos arányának alakulása fordítottan arányos a kiindulási sejtkoncentrációval. A versengő kitapadás alapján megállapítható, hogy *Escherichia coli* Bay100 nem befolyásolta sem a *B. bifidum* B3.2, sem a *B. lactis* Bb-12 törzs tapadását. A bifidobaktérium törzsek közül a *B. bifidum* B3.2 törzs nem gátolta az *E. coli* Bay100 tapadását, míg a *B. lactis* Bb-12 a 10^8 és 10^7 tke/lyuk hozzáadott *E. coli* koncentrációnál kismértékű

gátlást, a 10^6 tke/lyuk *E. coli* hozzáadott koncentrációnál egy nagyságrendű gátlást fejtett ki a törzsre az egyedüli tapadásához viszonyítva.

Erjesztési vizsgálatok

Az erjesztési vizsgálataim során kiderült, hogy a zölségleveket (sárgarépa-, cékla- és csicsókalé) az alkalmazott mono és vegyes kultúrák jól hasznosítják. A nyers répalé előkezelésére alkalmazott pasztörözés mellett megvizsgáltam a nagy hidrosztatikus nyomású kezelés alkalmazhatóságát. Feltérképeztem a bifidobaktériumok szaporodását, anyagcsere tevékenységét a sárgarépalében. A *B. lactis* Bb-12 törzsnél $2,48 \cdot 10^{10}$ tke/l*h, a *B. bifidum* B7.1 esetén $6,26 \cdot 10^{10}$ tke/l*h, a *B. bifidum* B3.2 törzsnél $7,60 \cdot 10^{10}$ tke/l*h, és a *B. longum* A4.8 törzsnél $4,50 \cdot 10^{10}$ tke/l*h fajlagos sejthozamokat kaptam a pasztörözött sárgarépalében, amely értékek jó egyezést mutatnak az irodalmi adatokkal. Mind a négy törzs sejtszáma már az erjesztés 6. órájában elérte a 10^8 nagyságrendű sejtsűrűséget. Mindegyik törzsnél fokozatos egyenletes szénhidrát-tartalom csökkenést figyeltem meg. A Bb-12, a B3.2 és B7.1 törzs esetében hasonló mértékű szénhidrát-fogyást (4,36-ról 3,80-3,88 (w/v)%-ra), míg az A4.8 kultúrájánál kisebb fogyást (4,36-ról 4,04 (w/v)%-re) tapasztaltam. Az erjesztés végén a különböző törzsek esetében a tejsav koncentráció 15-17 mg/ml, az ecetsav koncentráció pedig 3,3-5,3 mg/ml tartományban változott. A sárgarépalé α - és β -karotin tartalma a 24 órás fermentációkat követően különböző mértékű csökkenést mutatott: a B7.1 törzsszel történő erjesztés során a legkisebb (4 és 9%), míg az A4.8 törzsnél a legnagyobb (22 és 30%) változást tapasztaltam. A termékfejlesztésre irányuló vizsgálatok alapján megállapítható, hogy mind a sárgarépalében, mind a csicsókalében a léptéknövelési és a tárolási célok teljesültek. Meghatároztam a sűrítményből készített zöldséglevék optimális szárazanyag-tartalmát: a sárgarépa 8 (m/m)%, a csicsóka 7,5 (m/m)% és a cékla 10 (m/m)%. A léptéknövelés során (2 literes fermentorban) a törzsek a lombikos kísérletekhez hasonlóan jó szaporodó-, illetve erjesztőképességgel rendelkeztek. A *B. lactis* Bb-12 törzs 4°C-on történő tárolás alatti túlélőképességét vizsgálva fermentált termékekben megállapítottam, hogy a bifidobaktérium a sárgarépalében 45 nap után, valamint *Lactobacillus casei* Shirota törzsszel társított vegyes kultúrával erjesztett csicsókalében 72 nap után is megőrizte életképességét. A sárgarépalében egy nagyságrendű, a csicsókalében nagyságrenden belül maradt a sejtszám csökkenése. A csicsókalében szobahőmérsékleten is jó túlélőképességet mutatott az alkalmazott bifidobaktérium törzs és 72 nap után is csupán egy nagyságrendű sejtszám csökkenést tapasztaltam. A vegyes kultúra másik tagja az *Lb. casei* Shirota törzs is hasonló életképességet mutatott mindkét hőmérsékleten. Termékfejlesztési céljaim maradéktalanul teljesültek, mivel sikerült olyan vegyes starterkultúra (*B. lactis* Bb-12–*Lb. casei* Shirota) kialakítása, amely mind a probiotikumokra vonatkozó, mind a technológiai kívánalmakat kielégíti.

Az eredmények továbbfejlesztési lehetőségei

- Az egyes, szelektált *Bifidobacterium* törzsek (saját humán izolátumok) tömegtenyésztésének megvalósítása, starterkultúra előállítása és a szükséges engedélyeztetés után élelmiszeripari kultúraként történő alkalmazása.
- A *B. longum* A4.8 törzs által termelt antimikrobás anyag vizsgálata: kinyerése (tisztítása), jellemzése és esetleges alkalmazási lehetőségeinek feltárása.
- Az erjesztett zöldséglevelek bioaktív komponenseinek további vizsgálata: az előkezelés és az erjesztés során bekövetkező változások felderítése.
- Az erjesztett zöldséglevelek, illetve készítmények érzékszervi jellemzőinek értékelése, fogyasztói elfogadottság felmérése.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Meghatároztam a vancomycin antibiotikum és a hidrogén-peroxid hatását a szelektált *Bifidobacterium* törzsekre. Megállapítottam, hogy a törzsek vancomycin antibiotikummal szemben érzékenyek mind agardiffúziós, mind folyadék tenyészetben vizsgálva. A folyadék kultúrában az egyedi törzsek vancomycin érzékenysége a minimális gátló koncentrációk (MIC) alapján 0,75-3,0 µg/ml tartományban voltak. A bifidobaktérium törzsek hidrogén-peroxid toleranciája agardiffúziós módszerrel egységesen 375 µg/ml-nek adódott. A folyadék kultúrában az egyes törzsek függetlenül a faji hova tartozásuktól jelentős különbségeket mutattak, és a MIC értékek 100-300 µg/ml koncentráció tartományban változtak. A legnagyobb hidrogén-peroxid toleranciát a *B. lactis* Bb-12 starter kultúra mutatta.
2. A Maillard-reakció eredményeként létrejövő melanoidinek közül mind a kakaó, mind a kenyér melanoidin gátolja a bifidobaktériumok szaporodását. A gátlás mértékét erőteljesen befolyásolja a melanoidin molekulatömege. A különböző eredetű melanoidinokkal szemben a vizsgált törzsek eltérő érzékenységet mutattak.
3. Módszert dolgoztam ki prebiotikumok szelektív hatásának kimutatására. A modell rendszerben *B. lactis* Bb-12 és *E. coli* O157:H7, valamint *B. adolescentis*^T és *E. coli* O157:H7 törzsek párosításával értékeltém két kereskedelmi forgalomban kapható prebiotikum készítményt (Raftilose és Xylo-oligo 95P). Megállapítottam, hogy mind a *B. lactis* Bb-12, mind a *B. adolescentis*^T törzsek jobban hasznosították növekedési szubsztrátumként a két prebiotikumot, mint a glükózt, tehát bifidogén faktoroknak tekinthetők. Együtt tenyésztésnél a Raftilose jelenlétében a bifidobaktériumok nagyobb sejtszámot értek el, mint az *E. coli* O157:H7 törzs.
4. Kimutattam, hogy néhány *B. bifidum*, *B. longum* törzs gátló hatást fejt ki a *L. monocytogenes* 4ab, az *Ec. faecalis*, az *E. coli* O157:H7 és ATCC 8439 jelű törzsek szaporodására, és ez nem a pH hatás következménye. Megállapítottam, hogy az antagonista hatás mértékét befolyásolják a tenyésztési körülmények. Az antimikrobás hatást mutató törzsek tenyészleveiben egy 5-7 kDa molekulatömegű fehérjét találtam, amely gátolta a *L. monocytogenes* 4ab szaporodását.
5. A versengő tapadás során igazoltam, hogy a *B. bifidum* B3.2 nem, míg a *B. lactis* Bb-12 törzs gátolta az *E. coli* Bay100 törzs tapadását.
6. *B. lactis* Bb-12 starterkultúra számára elegendő tápanyagot szolgáltatnak a vizsgált növényi nyersanyagok – a sárgarépa-, a cékla- és a csicsókalé - a szaporodáshoz. Vegyes kultúrák fermentációs technológiát dolgoztam ki *B. lactis* Bb-12 és *Lb. casei* Shirota starterkultúrák alkalmazásával. A két törzs stimulálja egymás szaporodását, amely kommenzalista kölcsönhatásra utal.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

Tudományos folyóiratban megjelent közlemények

Impakt faktoros folyóiratcikk

SZEKÉR K., CSIBRIK-NÉMETH E., **KUN SZ.**, BECZNER J., GÁLFI P. (2007): Adhesion of lactic acid bacteria to Caco-2 cells-evaluation of different detection methods. *Acta Alimentaria*, 36 (3) 365-371. p.

SUMMA, C., MCCOURT J., CÄMMERER B., FIALA A., PROBST M., **KUN, SZ.**, ANKLAM E., WAGNER K-H. (2008): Radical scavenging activity, anti-bacterial and mutagenic effects of Cocoa bean Maillard Reaction products with degree of roasting. *Molecular Nutrition and Food Research*, 52 (3) 342-351. p.

KUN, SZ., REZESSY-SZABÓ, JM., NGUYEN, DQ., HOSCHKE, Á. (2008). Changes of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected *Bifidobacterium* strains. *Process Biochemistry*, 43 (8) 816-821. p.

Nem impakt faktoros folyóiratcikk

KUN, SZ., ZALÁN, ZS., PERGER-MÉSZÁROS, I., HOSCHKE, Á. (2007): Mono- and mixed culture fermentation with *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains on *Jerusalem artichoke* medium. *Hungarian Agricultural Research*, 16 (4) 10-13. p.

Konferencia kiadványban megjelent teljes terjedelmű közlemények

KUN, SZ., MYSZOGLÁD, R., REZESSY-SZABÓ, J.M., HOSCHKE, Á. (2005): Implementation of soymilk in production probiotic food. Proceedings at Innovation and Utility in the Visegrad Fours, October 13-15, 2005, Nyíregyháza, Hungary, 461-466. p.

KUN, SZ., REZESSY-SZABÓ, J.M., NGUYEN, D.Q., HOSCHKE, Á. (2005): Antibacterial activity of *Bifidobacterium* strains. Proceedings at Intradfood2005, Innovations in Traditional Foods, October 25-28, 2005, Valencia, Spain, 501-504. p.

Konferencia kiadványban megjelent összefoglalók

Magyar nyelvű

KUN SZ., REZESSY-SZABÓ JM, MAYER Á, HOSCHKE Á (2004): Probiotikus starterkultúrák alkalmazása szójaalapú termékek előállítására. MMT Nagygyűlés és X. Fermentációs Kollokvium. Keszthely, 2004. október 7-9. Összefoglaló 69.o.

BELÁK Á, KISKÓ G, MOHÁCSI-FARKAS CS, **KUN SZ.**, REZESSY-SZABÓ J, MARÁZ A (2004): A kompetitív mikrobiota vizsgálata bifidobaktériummal erjesztett sárgarépalében. MMT Nagygyűlés és X. Fermentációs Kollokvium. Keszthely, 2004. október 7-9. Összefoglaló 10.o.

KUN SZ., NAGY Z., REZESSY-SZABÓ J.M., NGUYEN D.Q., HOSCHKE Á. (2005): Vegyes kultúras erjesztések csicsókaporból készült tápközegben. Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak, Budapest, 2005. október 19-21, Összefoglaló 160.o.

KUN SZ., WAGNER K-H., REZESSY-SZABÓ J.M. (2005): Melanoidinek hatása a bifidobaktériumokra. Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak, Budapest, 2005. október 19-21, Összefoglaló 158.o.

SZEKÉR K., NÉMETH E., **KUN SZ.**, BECZNER J., GÁLFI P. (2005): Tejsavbaktériumok tapadása Caco-2H sejtekhez-a fluoreszcencián alapuló detektálás lehetőségei. Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak, Budapest 2005. október 19-21, Összefoglaló 176.o.

KUN, SZ., PERGER-MÉSZÁROS, I., ZALÁN, ZS., REZESSY-SZABÓ, J.M. (2007): Vegyes bifido és LAB starter kultúra fejlesztése zöldség fermentációhoz. 328. Tudományos Kollokvium Biotechnológia szekció, Budapest, 2007. szeptember 28.

VIZI, T., KUN, SZ., PERGER-MÉSZÁROS, I., HAVAS, P., REZESSY-SZABÓ, J.M (2007): Különböző baktérium törzsek szénhidrát hasznosítása. Lippay János – Ormos Imre – Vas Károly Tudományos Ülésszak, Budapest, 2007. november 7-8, Összefoglaló 102.o.

REZESSY-SZABÓ, J.M, KERÉKES-MAYER Á., KUN, SZ., PERGER-MÉSZÁROS, I., BUJNA E., NGUYEN, D.Q., DÜCSŐ, L., HOSCHKE, Á. (2007): Probiotikus termékek fejlesztési lehetőségei növényi eredetű nyersanyagokon. Regionális Élelmiszertudományi Kollokvium, Szeged, 2007 október 12.

REZESSY-SZABÓ, J.M, PERGER-MÉSZÁROS, I., KUN, SZ., HOSCHKE, Á. (2007): Probiotikus termékek fejlesztése különleges táplálkozás igényű fogyasztók számára. Táplálkozástudomány Iskolája Konferencia, Budapest, 2007. november 23.

Idegen nyelvű

KUN, SZ., REZESSY-SZABÓ, J.M., MAYER, Á., NGUYEN, D.Q., HOSCHKE, Á. (2004): Cultivation of probiotic *Bifidobacterium* strains in synthetic and natural media. 2nd Central European Congress on Food, April 26-28, 2004, Budapest, Hungary, 143. p.

KUN, SZ., MAYER, Á., REZESSY-SZABÓ, J.M., NGUYEN, D.Q., HOSCHKE, Á. (2004): Possibilities for production of non-conventional probiotic food. FoodMicro 2004, September 12-16, 2004, Portoroz, Slovenia, 385. p.

SZEKÉR, K., NÉMETH, E., KUN, SZ., BECZNER, J., GÁLFI, P. (2005): Adhesion of lactic acid bacteria to Caco-2H cells – possibilities for detection. 1st Central European Forum for Microbiology (CEFOM), October 25-28, 2005, Keszthely, Hungary, 155. p.

KUN, SZ., REZESSY-SZABÓ, J.M., NGUYEN, D.Q., HOSCHKE, Á. (2006): Organic acid production by beneficial bifidobacteria in carrot juice. The SAFE Consortium International Congress on Food Safety, June 11-14, 2006, Budapest, Hungary, 28. p.

KUN, SZ., DALMADI, I., DÜCSŐ, L., HOSCHKE, Á. (2006): Application of high pressure processing for pre-treatment of carrot juice prior to fermentation. FoodMicro2006 (food safety and food biotechnology), August 29-September 2, 2006, Bologna, Italy, 485. p.

PERGER-MÉSZÁROS, I., ZALÁN, ZS., KUN, SZ., REZESSY-SZABÓ, J.M. (2007): Development of vegetable based probiotic food applying mixed culture. 4th Probiotics, Prebiotics & New Food, September 16-18, Rome, Italy, Cibus, Vol: 3, 84 p.

VIZI, T., KUN, SZ., NGUYEN, D.Q., REZESSY-SZABÓ, J.M (2007): Utilization of prebiotics by various bacterial strains. 15th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology, July 18-20, Budapest, Hungary. Abstract in Acta Microbiol. Immunol. Hung., 54, S143-S144.