



SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
UNIVERSITAS SCIENTIARUM SZEGEDIENSIS
MÉRNÖKI KAR

***A β -GLÜKOZIDÁZT TERMELŐ MUCOR CORTICOLUS
PENÉSZGOMBÁVAL VÉGZETT SZILÁRD FÁZISÚ
FERMENTÁCIÓ HATÁSA GYÜMÖLCSTÖRKÖLYÖK
ANTIOXIDÁNS TULAJDONSÁGAIRA***

TDK DOLGOZAT

Kocsis Mónika

II. évfolyamos okleveles élelmiszermérnök

hallgató

Témavezető:

Dr. Krisch Judit

egyetemi docens

SZEGED

2014

TARTALOMJEGYZÉK

BEVEZETÉS	3
1. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	5
1.1. Az oxidatív stressz, reaktív oxigén fajták	5
1.2. Antioxidánsok	7
1.3. C-vitamin antioxidáns hatása	9
1.4. E-vitamin (tokoferol) antioxidáns hatása	9
1.5. Karotinoidok antioxidáns hatása	9
1.6. Fenolos szerkezetű vegyületek	10
1.6.1. Fenolsavak és származékaik.....	10
1.6.2. A flavonoidok.....	11
1.6.3. A flavonoidok felszívódása, fiziológiai hatások	14
1.7. A bogyós gyümölcsök jelentősége	15
1.8. A fekete ribiszke (<i>Ribes nigrum</i>).....	15
1.8.1. A fekete ribiszke növényteni leírása	16
1.8.2. A fekete ribiszke beltartalmi értékei	17
1.9. A josta (<i>Ribes nidigrolaria</i>)	17
1.9.1. A josta növényteni leírása	18
1.9.2. A josta beltartalmi értékei	19
1.10. Járomspórás gombák törzse (<i>Zygomycota</i>).....	19
1.11. Glikozidázok	20
1.11.1. A β -glükózidáz	21
1.12. Szilárd fázisú fermentáció	21
2. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	23
2.1. Felhasznált anyagok	23
2.1.1. Mikrobiológia laborban használt anyagok	23

2.1.2. Kémia laborban használt anyagok.....	23
2.2. Módszerek	24
2.2.1. A fekete ribiszke és a josta előkészítése.....	24
2.2.2. Szilárd fázisú fermentáció	24
2.2.3. Mintavétel.....	25
2.2.4. Hatóanyag vizsgálatok	26
3. EREDMÉNYEK, ÉRTÉKELÉS	30
3.1. Béta-glükózidáz aktivitás	30
3.2. Összes fenol tartalom	32
3.3. Szabadgyökfogó kapacitás	34
3.4. Vasredukáló képesség	35
3.5. Összes antocián tartalom	37
3.6. A mérések összehasonlítása	39
4. ÖSSZEFOGLALÁS.....	41

BEVEZETÉS

A világ, így hazánk lakosságának nagy része szenved a szabadgyökökkel összefüggésbe hozható betegségek (elhízás, szív-és érrendszeri betegségek, kettéstípusú diabetes, rosszindulatú daganatos megbetegedések) egyikében. Kialakulásukban elsődleges szerepe van a helytelen táplálkozási szokásoknak, a stressznek és a káros külső hatásoknak. A jelenlegi epidemiológiai bizonyítékok növekvő számban mutatnak rá a gyümölcsök és zöldségek pozitív hatásaira, amivel megelőzni, illetve kezelni lehet a fent említett betegségeket. Ezek a pozitív hatások a jelenlegi álláspontok alapján a fenolos összetevőknek, fitokemikáliáknak tulajdoníthatóak, melyeknek antioxidáns aktivitásuk van. Diplomamunkám témaválasztásánál fontosnak tartottam olyan témakör kiválasztását, amely a megelőző, preventatív táplálkozáshoz kapcsolódik. Ennek fontos részét képezik a gyümölcsök és zöldségek, valamint a bennük megtalálható polifenolos vegyületek, amelyeknek kiemelkedő szerepük van az oxidatív stressz hatásaival szembeni küzdelemmel. Ezért választottam témának az egyre nagyobb népszerűségnek örvendő és egyre nagyobb figyelemben részesedő bogyós gyümölcsök antioxidáns tulajdonságú vegyületeinek vizsgálatát. Ezek a fenolos fitokemikáliák növényi eredetű másodlagos metabolitok azért szintetizálódnak, hogy megvédjék a növényt a biológiai és környezeti stressz behatásoktól, mint amilyenek a gombás vagy baktériumos fertőzések, vagy, mint amilyen a hosszantartó UV sugárzás. A fitokemikáliák mindenhol megtalálhatóak a növényben, de a magok és a héj különösen gazdagok fenolos vegyületekben.

A fenolok egy része viszont glikozilált formában van jelen a növényekben, ami növeli vízzoldhatóságukat, de gyengíti az antioxidáns hatásukat. Ez a kapcsolódás a fenolok hidroxil csoportjain keresztül történik, csökkentve az antioxidáns hatást, mivel a fenolgyűrűkön található szabad hidroxil csoportokhoz való hozzáférés fontos, hogy stabilizálják a szabad gyököket. Ahhoz, hogy a vékonybél falán átjussanak, felszívódjanak ezek a fenolok, a glikozidos kötésüket fel kell bontani. Erre a táplálékban és a gyomor nyálkahártyájában is megtalálható glükózidázok, köztük a β -glükózidáz képes.

Ilyen β -glükózidáz enzimet termel számos fonalas gomba, köztük a járomspórás *Mucor corticolus* is. Ezen mikroorganizmusok sikeresen növekednek a gyümölcsfeldolgozásból visszamaradt hulladékon, amely anyag rendkívül gazdag antioxidáns hatású anyagokban.

A folyamat szilárd fázisú fermentációval valósítható meg, amely eredményezheti a törköly vízdoldható fenolos antioxidánsokkal való dúsulását, így javulhat a fitokémikális profil összetétele, és az emberi szervezetben való felszívódás mértéke (Vattem and Shetty, 2003; Vattem et. al., 2005).

Vattem és munkatársai (2003, 2004) az amerikai tőzegáfonya légyártás után visszamaradt törkölyének továbbhasznosításának lehetőségeit vizsgálták. A kutatás során a törkölyön, nitrogénforrás hozzáadása után, szilárd fázisú fermentációval *Lentinus edodes* illetve *Rhizopus oligosporus* gombát neveltek. A vizsgálatot elvégezték különböző nitrogénforrásokkal is. A fermentáció során meghatározott időközönként vizes illetve etanolos extraktumokat készítettek a gombával átszőtt héjmaradványokból, amely kivonatok fenol tartalmát és antioxidáns tulajdonságait vizsgálták. Méréseik azt mutatták, hogy a szilárd fázisú fermentáció során nőtt az oldható szabad fenolok mennyisége és ezzel együtt az antioxidáns hatás is. Ezt az eredményt elsősorban a gomba által termelt β -glükózidáz enzimnek tulajdonították. A β -glükózidáz kiszabadította a fenolokat a glikozidos kötésekből és a szervezet számára felvehető állapotúvá tette azokat. E vizsgálatok bizonyítják, hogy a gyümölcstörkölyre oltott fonalas gombák növekedés közben képesek olyan enzimeket termelni, melyek megnövelik az oldható fenolok mennyiségét és ezek egy esetleges élelmiszeripari felhasználáshoz extrahálhatók az elegyből.

További publikációk is beszámolnak *Lentinus edodes* illetve *Rhizopus oligosporus* gombát és szójalisztet, mint nitrogénforrást alkalmazó szilárd fázisú fermentáció antioxidáns aktivitást növelő hatásáról ananász esetében is (Correia et. al., 2004). Ezen kívül sikeres fenol tartalom növekedést értek el Koji búza *Aspergillus oryzae* és *Aspergillus awamori nakazawa* gombákkal, szintén szójaliszt felhasználásával való fermentációja során (Bhanja et. al., 2009).

Ezen irodalmi adatok alapján munkám célkitűzései az alábbiak voltak:

- Különböző gyümölcs törkölyök (fekete ribizli és josta) fenol összetételének és antioxidáns tulajdonságainak vizsgálata a β -glükózidázt termelő *Mucor corticolus* fonalas gombával végzett szilárd fázisú fermentáció során.
- A szilárd fázisú fermentáció során használt gomba által termelt β -glükózidáz enzim aktivitásának meghatározása.

1. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

1.1. Az oxidatív stressz, reaktív oxigén fajták

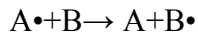
Az élőlények sejtjeiben, így az emberek szervezetében természetes körülmények között lejátszódó biokémiai folyamatok, bizonyos oxidációs folyamatok, során keletkeznek szabadgyökök. Ezen molekulák egy részének fontos szerepe van a szervezet normális működésének fenntartásában, többek között a sejtciklus szabályozásában, a sejt anyagcsere folyamataiban, illetve a szervezet védekező mechanizmusában (Davies, 2000). A szabadgyökök igen reaktívak, erőteljes oxidáló hatással rendelkeznek és reaktív oxigénfajtáknak (ROS-reactive oxygen species) nevezik őket. A sejten belüli folyamatok gondoskodnak a felesleges ROS-ok semlegesítéséről, azonban sok esetben külső tényezők hatására is keletkeznek ilyen reaktív oxigén fajták, amelynek következménye, hogy a szervezet már nem győzi ezek eltávolítását. Ilyen külső tényezők lehetnek a dohányzás, sok telített zsírsav a táplálkozásban, túl sok edzés, levegőszennyezés, radioaktivitás, változó vegyértékű fémionok, stb. (Krisch, 2014). A reaktív oxigén fajták, amelyeket neveznek reaktív oxigén intermediereknek (ROI) is, kontroll nélküli termelődése oxidálja az olyan biomolekulákat, mint a nukleinsavak, fehérjék, zsírok. Ez megváltoztatja a genetikai információt, denaturálja a fehérjéket, inaktiválja az enzimeket és átrendezi a biológiai membránokat. Ezek a folyamatok oxidatív stresszt okoznak, ami káros *in vivo* oxidatív folyamat. Az oxidatív stressz az oxidáns-antioxidáns egyensúly megbomlásának eredménye és károsítja a szervezetet, szerepet játszik számos degeneratív folyamatban, mint az öregedés, az érlelmeszedés, az idegi megbetegedések, gyulladások és bőrbetegségek kialakulásában (Matsuo, Kaneko, 2000).

1. táblázat Reaktív oxigén intermedierek a biológiai rendszerekben. Forrás: Matsuo, Kaneko (2000)

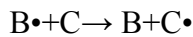
ROI	Molekuláris forma	Képződés
Szabad gyökök		
Szuperoxid gyök	$\cdot\text{O}_2^-$	Az alapállapotú oxigén egyelektronos redukciója.
Hidroperoxil gyök	$\text{HOO}\cdot$	A szuperoxid gyök protonációja.
Hidroxil gyök	$\text{HO}\cdot$	A hidrogénperoxid egyelektronos redukciója és az alapállapotú oxigén háromelektronos redukciója.
Nitrogén monoxid	$\text{NO}\cdot$	A nitrit egyelektronos redukciója.
Peroxil gyök	$\text{ROO}\cdot$	A hidroperoxid egyelektronos redukciója.
Nem gyök természetű molekulák		
Szinglet oxigén	$\Delta\text{O}_2, \Sigma\text{O}_2$	Az alapállapotú oxigén gerjesztése során jön létre.
Hidrogénperoxid	H_2O_2	Az alapállapotú oxigén kételektronos redukciója, amit a protonálódása követ; és a peroxid ion protonációja.
Peroxinitrit	ONOO^-	A nitrogén monoxid reakciója a szuperoxid gyökkel.
Hidroperoxid	ROOH	A szinglet oxigén oxigenálódása telítetlen összetevők által és autooxidáció.

A szabad gyökök olyan molekulák vagy molekularészletek, amelyek párosítatlan elektront tartalmaznak a legkülső elektronhéjukon. Ezek az anyagok igen reaktívak, ugyanis párosítatlan elektronjaik "párosítására", egy –energetikailag- stabilabb állapot elérésére törekednek. Így a szabad gyököknek nagy a reakciókészségük, könnyen és gyorsan kémiai reakcióba lépnek más vegyületekkel. Ilyen gyökök az élő szervezetben is keletkeznek normál élettani körülmények között (Fehér & Vereckei, 1985).

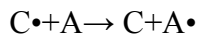
A nem gyökös oxigén tartalmú molekulák nem stabilak, amely szintén ahhoz vezet, hogy ezek a molekulák nagyon reakcióképesek, stabil molekulává akarnak válni. A szabad gyökök számos biológiai folyamatban szerepelnek. Reakcióba lépnek más molekulákkal, így reakciós láncot indítanak el, amely során újabb és újabb gyökök keletkeznek. A folyamat akkor ér véget, ha a gyök egy másik gyökkel reagál és ennek egy nem reaktív termék lesz az eredménye.



Az A gyök elektront ad le a B-nek, miközben B reaktív lesz, A pedig nem (iniciáció). A keletkezett B• gyök labilis, ezért reakcióba lép egy harmadik (C) molekulával, mely során egy harmadik gyök (C•) keletkezik (propagáció).



Ha a harmadik gyök az indulási elektront adó molekulával reagál, az eredeti gyök keletkezik, és a gyök láncreakciója újra indul.



Ez a láncreakció addig folytatódik, míg nem jön létre egy, a folyamatot lezáró lépés. Ha ez a láncreakció szabályozás nélkül megy végbe a szervezetben, súlyosan károsítja a biológiai rendszereket. A termináció akkor lehetséges, ha a gyökök egymással reagálva nem reaktív terméket képeznek.



A reakciót szintén zárni képesek az antioxidánsok is, melyek reakciója a gyökökkel nem reaktív termékeket eredményez (Matsuo, Kaneko, 2000).

1.2. Antioxidánsok

Az antioxidánsok olyan molekulák, amelyek csekély mennyiségben vannak jelen az oxidálódó szubsztánchoz képest, és jelentős mértékben csökkenteni, vagy akár gátolni is képesek annak oxidációját (Fehér & Vereckei, 1985). Ezeknek a vegyületeknek egy részét szervezetünk termeli (endogén antioxidánsok), másik részét pedig táplálékkal vesszük magunkhoz (exogén antioxidánsok). Ha ezek a vegyületek nem találhatók meg az emberi szervezetben, akkor a szabad gyök testünk ép sejtjeiből veszi el a hiányzó elektront, s ez által károsítja szervezetünket (Passwater, 1999).

Szervezetünk a káros hatások ellen az antioxidáns védelmi rendszerrel veszi fel a harcot. E védelmi rendszer számára három út járható, amellyel megakadályozza a szabad gyökök kialakulását és/vagy a felesleg fennmaradását:

1. A keletkezett gyököket hatástalanítja. Ez a mód a szuperoxid anion és más kisebb reaktivitású gyökök ellen hatásos.

2. Meggátolja a szabad gyökök képződését a kiindulási anyagok más úton történő elbontásával. Nagy energiájú, rövid élettartamú gyökök esetén ez a módszer igen eredményes.

3. A gyökök okozta sérüléseket minél előbb kijavítja. Nagy reaktivitású gyökök esetében ez a másik lehetőség az előző pontban leírtak kiegészítéseként (Vinczer, 1995).

A szervezet antioxidáns védekező rendszere az antioxidáns enzimekből és a biológiai antioxidánsokból áll. Az enzimek közé tartozik a szuperoxid dizmutáz (SOD), kataláz (CAT) és a peroxidázok. A nem enzim antioxidánsok csoportjába sorolhatók a kis molekulatömegű vegyületek, úgymint a glutation és az α -tokoferol (E-vitamin). A húgysav pedig a sejtközötti térben látja el az antioxidáns szerepet. Ezeket nevezzük úgynevezett endogén antioxidánsoknak. Antioxidáns hatású anyagok az étrendünkből is bekerülhetnek szervezetünkbe, hatásukat közvetlenül vagy közvetve fejtik ki. Ilyen antioxidánsok lehetnek a polifenolok (flavonoidok és nem flavonoidok), karotinoidok (pl. β -karotin) és vitaminok (C-, E-vitamin)(Krisch, 2014).

2. **táblázat** Biológiai védelem az oxidatív stresszel szemben. Forrás: Matsuo, Kaneko (2000)

Antioxidáns védelem	Előfordulás
Védekező antioxidáns enzimek	
Szuperoxid diszmutáz CuZn-SOD	citoszol
Ec-SOD	extracelluláris tér
Mn-SOD	mitokondrium
Fe-SOD	citoszol, növények
Kataláz (CAT)	peroxisómák
Glutation peroxidáz (GPX)	citoszol, extracelluláris tér, biomembránok
Antioxidánsok	

E-vitamin	biomembránok, lipoproteinek
C-vitamin	citoszol, extracelluláris tér
Karotinoidok	biomembránok, lipoproteinek
Redukált glutation (GSH)	citoszol, extracelluláris tér

A két típus közül a nem enzimatis antioxiánsokat és hatásukat részletesebben mutatom be, hiszen munkám során is ezen antioxiánsok néhány elemének mérésével foglalkoztunk.

1.3. C-vitamin antioxiáns hatása

Az aszkorbinsavat az állatfajok többsége szintetizálni tudja glükózból vagy galaktózból, és ezeknek a szervezeteknek nincs szüksége C-vitamin pótlásra. Azonban a főemlősök és az emberek elvesztették az L-aszkorbát szintetizáló képességüket és ezért csak a táplálék útján tudnak C-vitaminhoz jutni, így igen fontos az e vitaminban dús élelmiszerek fogyasztása. (Frei és Traber, 2001). A C-vitamin pozitív és nélkülözhetetlen egészségügyi hatásai jól ismertek, de igen erős antioxiáns tulajdonságokkal is rendelkezik. Az extracelluláris folyadékterek legfontosabb antioxiánsa, amely tulajdonságát vízzoldhatóságának köszönheti (Stocker és Frei, 1991).

1.4. E-vitamin (tokoferol) antioxiáns hatása

Az E-vitamin elnevezés nyolc különböző, de kémiaiilag hasonló vegyület (tokoferolok) gyűjtőneve. Ide tartozik az alfa-, béta-, gamma- és delta-tokoferol, valamint az előbbiektől kissé különböző tokotrienol-molekula. Biológiai szempontból az alfa-tokoferol a legaktívabb (Csuka et al., 2005). A E-vitamin a sejtek zsíros közegében hatástalanítja a szuperoxid és a lipidperoxid gyököket úgy, hogy közben a fenolos hidroxil csoportjából hidrogén atomot ad le a romboló hatású gyökök számára. Mivel a tokoferol hat a lipidperoxid gyökök ellen, ezáltal fontos szerepe van a többszörösen telítetlen zsírsavak peroxidációjának gátlásában, védi a vörösvértesteket, akadályozza a véralvadást, vérrögzépződést, emellett védi az LDL koleszterint, mely könnyen lerakódhat oxidatív stressz hatására az artériák falára (Novák & Nyitrai, 2001).

1.5. Karotinoidok antioxiáns hatása

Az A-vitamin provitaminjaként ismert karotinoidok legismertebb tagja a β -karotin, ami kettős kötésének felbontásával semlegesíti a szabad gyököket a sejtek zsíros közegében.

A karotinoidok antioxidáns hatása abban nyilvánul meg, hogy a szabad gyökök eliminálásával erősítik immunrendszert (Passwater, 1996).

1.6. Fenolos szerkezetű vegyületek

Az ide tartozó vegyületek sokasága a növényi szervezetek másodlagos anyagcseretermékei és fontos szerepet töltenek be az állati és emberi táplálkozásban. A növényekben a biológiai és környezeti stressz elleni védelem a feladatuk. Ilyen káros támadások lehetnek bakteriális és gombás fertőzések, valamint nagy energiájú radioaktív sugárzásnak való kitettség, amelyre válaszként szintetizálódnak a fenolos vegyületek. Bőséges forrásai a különböző gyümölcsök (pl. almafélék, bogyós gyümölcsök), valamint a belőlük készült italok (gyümölcslevek, vörösborok), de megtalálhatóak a zöldségekben (pl. hagyma, káposzta, hüvelyesek) is.

A különböző típusú fenolos vegyületeket a bennük lévő gyűrűs szerkezet szerint, valamint a gyűrűben lévő és a gyűrűkön kívüli összekapcsoló szénatomok száma szerint csoportosítanak. Tehát szerkezetileg nagyon változatosak. Sok közülük több fenol gyűrűt is tartalmaz, amelyeket polifenoloknak nevezünk (Vattem et al., 2003).

1.6.1. Fenolsavak és származékaik

A növényekben a fenolsavak és hidroxilszármazékaik rendkívül elterjedtek, melyek előfordulnak szabadon és glükozidok formájában egyaránt, és gyakran metiléterük is megtalálható. A bogyós gyümölcsökben lévő fenolsavaknak két osztályát különböztetjük meg: a benzoésav és a fahéjsav, valamint ezek hidroxil származékai (Hajós, 2008). A főként szabad formában előforduló fenolos savakon belül a hidroxil-fahéjsav származékok (kumársav, kávéssav, ferulasav stb.) sokkal elterjedtebbek, mint a másik nagy csoport, a hidroxil-benzoésav származékok (protokatechin sav, galluszsav stb.) (Mojzis és et. al., 2008).

A hidroxil-benzoésavak legfontosabb képviselője a galluszsav, amely legnagyobb mennyiségben a muskotályos szőlőkben található meg. A hidroxil-benzoésavak olyan komplex szerkezettel rendelkező vegyületek, melyeknél a karboxil- és hidroxil-csoportjaik között végbemenő kondenzációs reakciókkal különféle di- és polimereket, valamint szénhidrátokkal kapcsolódva glükozidokat képezhetnek. Ebbe a csoportba tartozik például az ellagsav (eper, málna) és a 4-hidroxil-benzoésav (ribizlik) is. Ezeknek a savaknak a polimerjei képezik az úgynevezett hidrolizálható tanninok egy részét, amelyek a galluszsav és az ellagsav glükózzal képzett észterei. A növényekben kimutatták gombaölő hatásukat. Emellett védelmet jelentenek a növényevők ellen is összehúzó hatásuk miatt, amely annak köszönhető, hogy

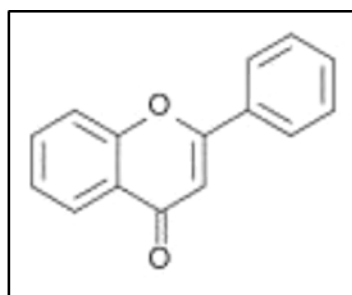
reakcióba lépnek a szájnyálkahártya fehérjéivel. Az gallotanninok a mangóban találhatóak meg, az ellagitanninok pedig a piros gyümölcsökben, mint a meggy, az áfonya, a szeder, málna stb.

A hidroxifahéjsav származékok a növényekben valamilyen glükózhoz vagy kininsavhoz kapcsolt észterek formájában fordulnak elő. Leggyakrabban a gyümölcsök hájában találhatóak meg. Az alapvegyület-típus maga a szubsztituált fahéjsav, amely bioszintézise a fenilalaninból indul ki és különböző enzimek hatására transz-fahéjsav, kumarinsav, kávésav, ferulasav vagy a szinapinsav keletkezhet. A négy alapforma a p-kumarinsav (pl. bogyós gyümölcsök, padlizsán), a kávésav (pl. bogyós gyümölcsök, kávé, paradicsom), a ferulasav (elsősorban gabonafélékben), valamint a szinapinsav (pl. áfonya, narancs). A kumarinsav további átalakulása a flavonoidok szintéziséhez vezet (Hajós, 2008; Krisch, 2014).

1.6.2. A flavonoidok

A flavonoidok körébe azok az oxigéntartalmú heterociklikus vegyületek és a velük szerkezeti izomér nyíltláncú származékok sorolhatók, amelyek difenil-propán-vázat ($C_6-C_3-C_6$) tartalmaznak. Ezeket a kémiaiilag különböző, de biológiai aktivitást mutató flavon típusú származékokat bioflavonoidoknak is nevezik. A fenolos vegyületek leggazdagabb csoportja, amelyek az alábbi osztályokba sorolhatóak (Tarr, 2002):

- flavonok
- flavonolok
- flavanonok
- flavanonolok
- flavan-3-olok
- izoflavonok
- antocianidinek



1. ábra A flavanoid alapváz

(forrás: <http://en.wikipedia.org/wiki/Flavonoid>)

A fent látható alapvázhoz (aglikon) különböző cukormolekulák is kapcsolódhatnak, így glükozidokat hoznak létre, amelyek sokkal gyakrabban fordulnak elő a természetben, mint aglikonjaik (Vattem et al., 2003).

A bogyós gyümölcsökben található flavonoidok különbözősége tehát az aglikonok eltéréséből, valamint nagyszámú glikozidjaiknak különböző módosulataiból fakad. Emellett fontos az a képességük is, hogy komplex molekulákká képesek-e alakulni. Az e téren végzett vizsgálatok kimutatták, hogy a fenolos vegyületek antioxidáns aktivitását szerkezeti felépítésük határozza meg. Ebből adódóan néhány vegyület fontosabb egészségvédő szerepet játszhat, mint a csoport többi tagja (Vattem et al., 2003).

A flavonok leggyakrabban különböző gabonafélékben, gyógy-és fűszernövényekben (pl rozmaring, kakukkfű), és zöldségfélékben fordulnak elő. Jellemző képviselőik a krizin, az apigenin és a luteolin. E vegyületek közös jellemzője, hogy különféle cukrokkal képzett csoportjukkal fém-ionokat is képesek megkötni. Ezek a komplexek élénk színűek (vörös, lila, barna) és jelentősen módosítják az ehető növényi részek ízét is.

A flavonolokat a növényvilág szinte valamennyi tagja képes szintetizálni. A legismertebbek közülük az intenzív sárga színű kvercetin és a halványabb sárga kemperol. Mindkét vegyület a gyümölcsök héjában halmozódik fel O-glikozid formában. A flavonolok a flavonszármazékokhoz hasonlóan rendkívül jó komplex képzők (fémeket is), amelyek stabilitásában jelentős különbségek vannak. A flavonolok egyik fontos reakciója a protonálódás, valamint az ez utáni vízkilépés. Ez a folyamat a növényi színanyagok egyik fontos csoportját alkotó antocianidinek képződéséhez vezet.

A flavanonok legnagyobb mennyiségben a különböző citrusfélékben (citrom, narancs, mandarin, grapefruit) fordulnak elő, fehér vagy nagyon halványsárga színűek. A narancs és grapefruit héjából egyaránt izolálható az enyhén keserű ízű narigenin. Az említett gyümölcsök intenzívebb sárga színe a karotinoid és a flavanon származékoknak köszönhetőek.

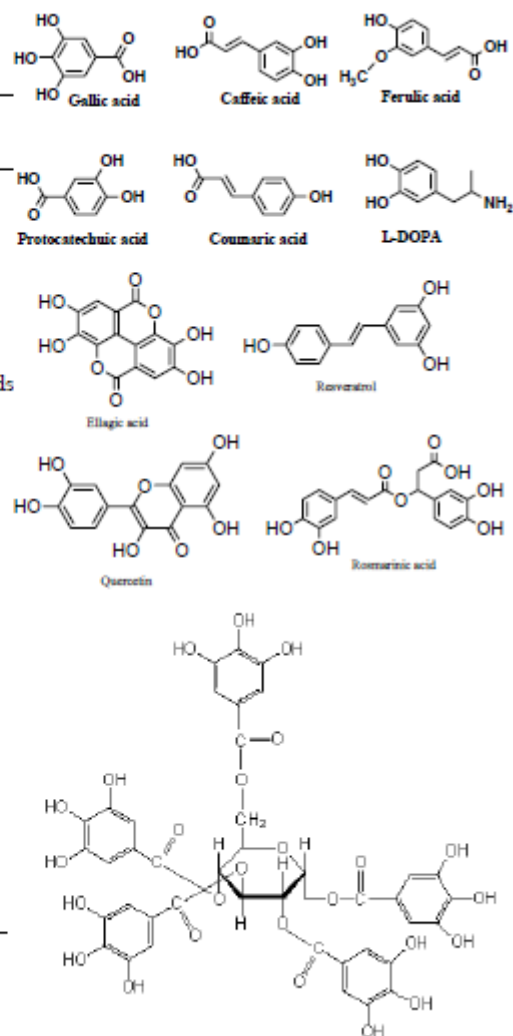
A flavanonol származékok a növényekben a flavanonokból keletkeznek. Legismertebb képviselőjük a kvercetin hidroszármazéka a taxifolin, amely számos növényben megtalálható, pl. a máriatövisben is. A flavanonolok bioszintetikus prekurzorai a flaván-3,4-diol és flaván-3-ol származékoknak, illetve a proantocianidineknek és a tanninoknak.

A flaván-3-olok, azaz a katechinek valamennyi érett gyümölcsben nagy mennyiségben megtalálhatóak. A vegyületcsoport két legfontosabb képviselője a katechin és az epikatechin. Ezen vegyületeknek, a gallokatechinnek és az epigallokatechinnek galluszsavval képzett észterei a gallo- és epigallokatechin-gallát, amelyek a zöld és fekete tea fontos hatóanyagai. A katechinek építőkövei a tanninoknak is, amelyeket szokás kondenzált tanninoknak is nevezni.

Az antocianidinek, valamint glikozidjaik az antocianinok a növények és gyümölcsök színéért felelős vegyületek a klorofillek és karotionidok mellett. Felépítésüket tekintve polihidroxi-flavilium-sók, amelyek pH függő reverzibilis szerkezetváltozása okozza a növények jól ismert színváltozásait. A vegyületcsoport ismert tagja a cianidin-klorid, amelyet vörös rózsából, kék búzavirágból és pipacsból is izolálható. A természetben a cianidin mellett másik öt antocianidin származék fordul elő, melyeknek glikozidjaik révén nagyszámú antocianin származék létezik (Hajós, 2008).

Table 1. The major classes of phenolic compounds in plants

Number of carbon atoms	Basic skeleton	Class
6	C ₆	Simple phenols Benzoquinones
7	C ₆ -C ₁	Phenolic acids
8	C ₆ -C ₂	Acetophenones Tyrosine derivatives Phenylacetic acids
9	C ₆ -C ₃	Hydroxycinnamic acids Phenylpropenes Coumarins Isocoumarins Chromones
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinones
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones
14	C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbenes Anthraquinones
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoids Isoflavonoids
18	(C ₆ -C ₃) ₂	Lignans
30	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂	Biflavonoids
N	(C ₆ -C ₃) _n (C ₆) _n (C ₆ -C ₃ -C ₆) _n	Lignins Catechol Flavolans (Condensed Tannins)



2. ábra A növényekben leggyakrabban előforduló fenolos vegyületek (forrás: Vatter et. al., 2005)

1.6.3. A flavonoidok felszívódása, fiziológiai hatások

A flavonoidok a növényi eredetű táplálékaink alkotórészeként rendszeresen kerülnek az emberi szervezetbe és fejtik ki sokrétű jótékony biológiai hatásukat, elsősorban antioxidáns tulajdonságuk által. Élelmeink flavonoid tartalma néhány tized mg/kg nagyságrendtől a néhány g/kg-ig is terjedhetnek.

Élelmiszerink közül a legtöbb növényi eredetű alapanyagokból készült ital, néhány növényi olaj (oliva, napraforgó stb.) is tartalmaz kisebb nagyobb mennyiségben polifenolokat, így flavonoidokat is. A zöldségek és gyümölcsök feldolgozásával, a hámozással és a levelek eltávolításával, a flavonoid tartalom jelentősen csökken, illetve a különféle konyhatechnikai eljárások további veszteséget eredményezhetnek. Az átlagos veszteség 50% körüli, de ezt a vegyület szerkezete és a feldolgozás jellege is befolyásolja.

A flavonoidok felszívódását és metabolizmusát elsősorban azok kémiai szerkezetétől függ. Tiszta állapotban általában rosszul szívódnak fel, kivételt képeznek a katechinek. A felszívódás hatékonyabb, ha élelmiszerekből, mint komplex mátrixból történik a bevitel. A nem abszorbeált flavonoidok az emésztőrendszeri traktusban intenzív anyagcserén mennek keresztül, amelynek során könnyen abszorbeálódó egyszerű fenolsavak keletkeznek belőlük, amelyek ezután tovább metabolizálódnak. A flavonoidok pozitív élettani hatása ezek összessége alapján alakul ki, azaz az eredeti vegyületnek és a szervezetünkben keletkezett származékaiknak együtteseként (Hajós, 2008).

A fenolos vegyületek belül a flavonoidok elsősorban az emésztő- és keringési rendszerben hatnak, úgy hogy, inaktiválják a szabad gyököket. A biomembránok foszfolipid rétegében gátolják a lipidperoxidációt, csökkentik az oxidált LDL arányát, azaz csökkentik az érlemezés veszélyét, gátolják a vérlemezkék összezsapódását, csökkentik a vérrögképződést, valamint fokozzák az érfalak stabilitását. Igazolt a daganatellenes és gyulladáscsökkentő hatásuk, elősegítik az E-vitamin regenerációját, növelik a C-vitamin és a β -karotin szintet, és csökkentik a diabetes mellitus hosszú távú szövődményeit, továbbá antivirális, antibakteriális, antiallergén hatással rendelkeznek (Hertog et al., 1992).

1.7. A bogyós gyümölcsök jelentősége

A gyümölcsök fogyasztása elengedhetetlen az egészséges étrend kialakításában, táplálkozás-élettani szempontból kiemelkedő helyen állnak a dolgozat témáját adó bogyós gyümölcsök. Munkám során a fekete ribiszkével és a jostával kapcsolatban végeztem vizsgálatokat, ezért ezen gyümölcsökkel és a táplálkozásban betöltött szerepükkel részletesebben foglalkozom.

A bogyós gyümölcsöknek különösen fontos a szerepe a szabadgyökök káros hatásainak megszüntetésében, ugyanis a többi gyümölshöz viszonyítva (pl. alma, őszibarack, kajszi, cseresznye, szilva) kiemelkedően nagy -akár tízszer nagyobb- az antioxidáns hatásuk. Bőséges fogyasztással a mellrák, valamint a szív-, és érrendszeri megbetegedések kialakulási kockázata csökkenthető (Capocasa et. al., 2008).

1.8. A fekete ribiszke (*Ribes nigrum*)

A ribiszke a ma elfogadott rendszertani besorolás szerint a Rosales rend Grossulariaceae családja tartozik. A *Ribes nigrum* az északi féltekéről származó gyümölcsfaj, ezért a hazai termesztetőség még éppen megoldható, de a külföldi feketeribiszke-fajták

klímaadaptációs készsége igen gyenge. Ez a gyümölcs leginkább a hűvösebb és párásabb klímát kedveli. A túl erős napsugárzás lombhulláshoz vezethet. Hazánkban termesztése a domb- és hegyvidékek mikroklímája felel meg a leginkább. A ribiszke termesztése során két különösen nagy vízigényű szakaszt különítünk el. Az első a zsendülés és a termés érése közötti idő (június közepétől június végéig), a második a rügydifferenciálódás ideje (július vége, augusztus eleje). A ribiszke mindkét szakaszban igényli az öntözést, amelyet bőséges gyümölcs hozammal hálál meg. A fekete ribiszke fajon belül még több fajtát különböztetünk meg, ezek közül hazai nemesítésű Fertődi (*R. nigrum tax. conc. scandinavium*) kiemelkedő jelentőségű (Papp és Popáczy, 1999).



3.ábra A fekete ribizli (<http://hu.wikipedia.org>, 2014)

1.8.1. A fekete ribiszke növényteni leírása

Botanikailag a fekete ribiszke a cserjék körébe tartozik. Gyökérrendszere szempontjából megkülönböztetjük az ivaros és az ivartalan úton szaporított növényt. Az ivaros úton termesztett ribiszkének főgyökér rendszere van, míg az ivartalan szaporítással előállított dugvány és bujtvány főgyökér nélküli, járulékos gyökerekből alakul ki (alsóbbrendű elágazásokban és gyökérszörökben gazdag). A ribiszke egy-két méter magas, tüskétlen cserje, amelynek zömök törzse a talaj felszíne fölött sok mellékágra oszlik. A cserjetörzsből évenként új hosszú szártagú hajtások növekednek, így a növény rendszeresen megújul.

Az évente fejlődő tövesszők száma a fajtától, a növekedési erélytől és a növény gondozásától függ. Általánosságban elmondható, hogy a tövesszők csúcsrügyeiből is leveles, hosszú hajtások fejlődnek ki. Az oldal- vagy hónaljrygök nagy részéből rövid vagy közepes hosszúságú termőrészek, termőgallyak képződnek. A fekete ribiszke virágzata az éves vesszőkön jelenik meg, kérgük nem hámlik és a termesztett fajták többsége éretten hullatja a bogyóit. A ribiszkék fűrtvirágzattal rendelkeznek, amelyen a virágok száma 8 és 30 közötti.

Levelük egyszerű, karéjosan tagolt, a lemez széle csipkésen vagy fűrészesen fogazott. A ribiszke gyümölcse botanikai értelmezés szerint áltermés, mert nem a magházból, hanem a vacokból alakul ki. A termésben, bogyóban egy magrekesz található, amely két fali maglécet tartalmaz, ezek 10-50 kúpos, kerületes és enyhén rücskös rajzolatú magot tartalmaznak. A bogyók csúcsán az érés után is fennmaradnak az elszáradt csészelevelek (Papp és Popáczy, 1999).

1.8.2. A fekete ribiszke beltartalmi értékei

A fekete ribiszke sok vitamint tartalmaz. A szervezet számára elhanyagolhatatlan vitaminok közül kiemelten magas a C-vitamin tartalma (132-220 mg 100g gyümölcsre vonatkoztatva), de emellett jelentős mennyiségű E-vitamin (1 mg), provitamin-A (karotin: 0,07-0,2 µg), P-vitamin (citrin) található még benne. Ezen kívül B₁-, B₂- és B₆- vitamint, valamint nikotinamidot és biotint is tartalmaz. A benne található savak sem elhanyagolhatóak, amelyek szintén rendkívül jó hatásúak az emberi szervezet számára, ide tartozik a citromsav (2,88 g) és az almasav (0,41 g). A ribiszke színanyagban gazdag gyümölcs, benne négy antocianin típus fellelhető: delfinidin-monoglikozid, cianidin-monoglikozid, delfinidin-ramnoglikozid és cianidin-ramnoglikozid (Papp és Popáczy, 1999).

Egy nemrégiben közölt kutatás alapján, amelyben különböző bogyós gyümölcsök növényi hatóanyagainak mennyiségét vizsgálták és hasonlították össze a következő adatokat kapták. A tanulmányban 8 fekete ribiszke fajtát is vizsgáltak, amelyekben átlagosan 229-871 mg/100g gyümölcs (az értékek fajtánként igen változóak) összes polifenol tartalmat mértek. Ezzel az eredménnyel a fekete ribiszke a legmagasabb polifenol tartalmú gyümölcs a kutatásban részt vett valamennyi bogyós közül. Az eredmények alapján ezenkívül a fekete ribiszkék totál antocianin tartalma 154-583 mg/100g, az antocianin tartalom az összes polifenolhoz viszonyítva elérheti akár a 99%-ot is, miricetin tartalmuk 1,5-7,7 mg/100g és kvercetin tartalmuk 0,4-4,8 mg/100g (Lugasi et. al., 2011).

1.9. A josta (*Ribes nigrum*)

A josta, azaz a risméte a ribiszke és a köszméte keresztezéséből létrejött faj. A Grossulariaceae családba és a Ribes nemzetségbe tartozik.



4.ábra A josta (forrás: <http://hu.wikipedia.org>, 2014)

Nemesítése Németországban kezdődött 1922-ben a Max Planck Intézetben. Az első keresztezéseket Lorenz végezte, amelyet később Bauer folytatott. Köszméte szülőnek egy domináns Amerikából származó vadköszméte fajt, a *Ribes divaricatum*-ot választották. A keresztezés eredménye steril hibridekhez vezetett. Ezek nagy része a háborúban elpusztult, de akadt néhány termékeny egyed, amellyel Bauer 1953-ban folytatni tudta a munkát. Az így létrehozott növényekből emelte ki a Josta fajtát. Magyarországon 1983-tól elismert fajta (Papp és Popáczy, 1999).

Nevét a „szülő” német nevének összevonásából – Johannisbeere és Stachelbeere – alakították ki. A növény különlegessége, hogy mindkét „szülő” jó tulajdonságait előnyösen egyesíti, tehát egy betegség-ellenálló, tüske nélküli, magas C-vitamin- és festéktartalmú, jól termékenyülő, valamint a fekete ribiszkénél nagyobb gyümölcsű faj jött létre (Géczi, 2000).

1.9.1. A josta növénytani leírása

A cserje nagyon erős vázrendszerű, robosztus növekedésű. A lefekvő termőágakon a gyümölcs szennyeződhet, illetve nehezen szedhető és a bokor alja nem művelhető. Ezért új művelésmódot dolgoztak ki a bokrok termőfelületének megemelésére. Rügye mindkét szülőnél nagyobb méretű, vesszei tüskétlenek és a fekete ribiszkére emlékeztetnek, de annál erősebbek. Levelei közepes nagyságúak, fényesek, inkább a köszmétehez hasonlítanak. Fürtös virágzatában 3-5 virág fejlődik, amelyek lilásan rózsaszín színűek. Bogyói nagyok, megnyúlt kerekdedek, átlagos tömegük 2,41 g és átmérőjük 14,6 mm. Íze nagyon kellemes, kissé savanykás, illata a fekete ribiszkére emlékeztet (Papp és Popáczy, 1999).

1.9.2. *A josta beltartalmi értékei*

A josta igen magas C-, B1-, B2-vitamin tartalommal rendelkezik (35-40 mg C-vitamint/100 g gyümölcs). A benne lévő gyümölcssavak jó hatással vannak az emésztésre, míg a növény védő hatású anyagai, antioxidánsai az immunrendszert erősítik. A legújabb kutatások eredményei alapján az derült ki, hogy a josta azokat az antocianinokat tartalmazza, melyek megtalálhatók mindkét szülőjében, a fekete ribizliben és a köszmétében egyaránt. Ezek a polifenolos vegyületek a delfinidin glükozidjai és rutinozidjai: delfinidin-3-glükozid, delfinidin-3-rutinozid, valamint a cianidin glükozidjai és rutinozidjai: cianidin-3-glükozid, cianidin-3-rutinozid, cianidin-3-O- β -(6''-E-p-kumaroil-glükopiranozid), cianidin-3-O- β -(6''-E-caffeil-glükopiranozid). Ugyanezek a kutatók egy új pigmentet is azonosítottak: ez a cianidin-3-(6''-Z-p-kumaroil-glükozid), mely mind az egres, mind a josta kultúrákban igen kis mennyiségben (<2%) fordul elő (Jordheim et al., 2007).

1.10. Járomspórás gombák törzse (*Zygomycota*)

A járomspórás gombák nevüket jellegzetes ivaros szaporodásukról (zigogámia) kapták. Az ebbe a törzsbe tartozó gombák a természetben mindenütt előfordulnak. A járomspórás gombák legtöbb fajt magában foglaló csoportja a Mucorales rend, ezen belül tipikus képviselőik a *Mucor* és *Rhizopus* nemzetségbe tartozó fajok, hétköznapi nevükön fejespenészek. Ezen fajok legtöbbször elhalt maradványokon és egyéb szerves anyagon élnek.

Egyes fajokon módosult hifák, ún. rizoidok rögzítik a tenyésztetet az aljzathoz és ezek szolgálják a tápanyagfelvételt is. Tápanyagban gazdag szubsztrátumon dús, nemezszerű micéliumot képeznek. Kis pH-jú közegben és oxigénmentes környezetben élesztőszerűen sarjadzanak. Ivartalan szaporodásuk önálló mozgásra képtelen sporangiospórákkal történik, az ivaros szaporodás pedig két, ivarilag kompatibilis, gametangium értékű hifanyúlvány egyesülése (zigogámia). A két gametangium összeolvadásával létrejött képletből a sejtmagvak egyesülése után vastag falú zigospóra (járomspóra) fejlődik. A *Rhizopus* és *Mucor* nemzetségbe tartozó fajok igen jelentős enzimtermelők (Jakucsek & Vajna, 2003).

A *Mucor* nemzetség a Mucoraceae családba tartozik, legismertebb tagjai a *Mucor mucedo*, a *M. rouxii*, a *M. racemosus* és a *M. hiemalis*.

Ezek a mikroorganizmusok gyakori laboratóriumi tesztorganizmusok. Többségük szaprotróf, talajban, és növényevő állatok ürülékében is előfordulnak, de megtalálhatók nagy számban gyümölcsök és növényi eredetű élelmiszereken, mint kártevők. Kezdetben fehér színű telepeket képeznek, amelyek a spórák érésekor megbarnulnak, illetve megfeketednek.

Jellemzőjük az apofizis nélküli sporangium és a függelék nélküli zigospóra, továbbá rhizoid és sztolon is előfordulhat rajtuk. A *Mucor* nemzetség tagjai között jó extracelluláris amiláz, lipáz, pektináz és proteáz termelőket találhatunk (Alves és mtsi. 2002).



5.ábra A *Mucor corticolus* telepek

1.11. Glikozidázok

A glikozidázok a hidroláz enzimek csoportjába tartoznak, amelyek szubsztrátjuk kovalens kötéseit víz részvételével bontják. A glikozidázok olyan enzimek, amelyek az O-glikozid, N-glikozid és az S-glikozid szerkezetű szubsztrátokat bontják. Élelmiszerkémiai szempontból a karbohidrátoknak, azaz az O-glikozidázoknak van a legnagyobb jelentőségük, amelyek az összetett cukrokat hidrolizálják. Szubsztrátjuk összetétele alapján két nagy csoportra oszthatjuk őket. Ez egyik az oligoszacharázok, a másik pedig a poliszacharázok. Elnevezésükből eredően az első csoport oligo-, míg a második poliszacharidokat bont. Az oligoszacharázok csoportján belül a legfontosabb enzimek az α -glükózidáz, a β -glükózidáz, az α -galaktozidáz, a β -galaktozidáz, a β -fruktozidáz és az α -ramnozidáz.

A poliszacharázok legfontosabb képviselői a β -amiláz, az amiloglükózidáz, az α -amiláz, az izoamiláz, valamint a celluláz és a pektinázok.

Az α -glükózidáz, vagy más néven maltáz az α térállású glikozidos hidroxilt tartalmazó glükóz glükózidjait hidrolizálja, tehát azoknak az oligoszacharidoknak az elbontását katalizálja, amelyekben α -térállású glükóz van. Az α -glükózidáz legtöbbször keményítőt bontó enzimek, amilázok kísérője. Az amilázok maltózzá bontják a keményítőt,

amelyet az α -glükózidáz hidrolizál tovább. Különböző eredetű típusaik pH optimuma 4,5-7,2 között van, hőmérsékleti optimumok 35°C (Csapó és Csapóné, 2003).

1.11.1. A β -glükózidáz

A β -glükózidáz, vagy más néven cellobiáz a β térállású glikozidos hidroxilt tartalmazó glükóz glükozidjait bontja. Az oligoszacharidok közül az egyik legfontosabb ilyen szerkezetű vegyület a cellobióz, elnevezése innen ered. Az enzim működéséhez a víz jelenléte elengedhetetlen az aktív konformáció megőrzése érdekében. A növényekben cellobiáz végzi egyszerű cukroknak nem cukorszerű anyagokkal képzett glikozidjainak hidrolízisét is, hiszen ezek többsége β -glükózid kötés. Ilyen glükózid pl. az amigdalín és a szalicin, amelyek a gyümölcs aromájának kialakításában játszanak fontos szerepet. A β -glükózidáz megtalálható egyes baktériumokban, élesztő- és penészgomba törzsekben, valamint emlősök veséjében és májában, a malátában, egyéb növényekben (pl. cseresznye, szója, rizs) stb.. A pH-optimuma 4,1-6,0 között van, de ez szubsztrát függő (Csapó és Csapóné, 2003). Az enzimet termelő szervezettől, valamint az enzim tulajdonságaitól függően a β -glükózidáz sejten belül (intracellulárisan), illetve kívül (extracellulárisan) is elhelyezkedhet. A bakteriális és az élesztő β -glükózidáz enzimek főleg intracelluláris elhelyezkedésűek, míg a fonalas gombák néhány kivételtől eltekintve a sejten kívüli térbe választják ki az enzimet (Bhatia et. al., 2002). A glükózidáz aktivitásának mérésére több módszer is ismeretes, amely a szubsztráttól függően választható ki. Az enzimaktivitás természetes vagy mesterséges β -O-glükózid hidrolízisével és a glükóz koncentráció nyomon követésével határozható meg. Általánosan elterjedt a para-fenol (4- nitro-fenil- β -D-glükopiranozid) szubsztrátot alkalmazó módszer, amelyben a koncentrációváltozás fotometriásan követhető 400 nm-en (Csapó és Csapóné, 2003).

1.12. Szilárd fázisú fermentáció

A szilárd fázisú fermentáció, angolul Solid State Fermentation (SSF), egy olyan eljárás, ahol mikroorganizmusokat növesztenek vízzel oldhatatlan (szilárd) vagy vízben korlátozottan oldódó anyagokon. Ezek a szilárd anyagok többnyire a mikrobák táplálkozási forrásai (szubsztrátjai) is egyúttal.

A szubsztrát csak kötött vizet tartalmaz, szabad vizet viszont nem. Ezen szilárd mátrix részecskéiben, vagy a részecskék közötti térben történik a mikroorganizmus szaporodása és az anyagcsere-folyamatok. A mátrix nedvességtartalma többnyire a 40-80% tartományban van és a részecskék közötti üres teret legtöbbször levegő tölti ki. A szilárd fázisú fermentáció tehát egy olyan komplex heterogén háromfázisú (gáz – folyadék - szilárd anyag) rendszer,

amelynek lényeges részét képezi a gázcsere is, különös tekintettel az aerob mikroorganizmusok esetén. Az SSF a természetben is végbemenő spontán folyamat, ilyen a korhadó fák, levelek, szárak és egyéb növényi részek mikrobiológiai lebontása, amelyeket különösen a fonális gombák végeznek. Az emberek is régóta használják ezt az eljárást (Szakács, 2000).

A mikrobiális fermentáció és az aerob mikrobiális gyarapítás szilárd halmazállapotú ételeken az íz megőrzésére és erősítésére, valamint tartósításra alkalmazott módszer, amelyet már évszázadok óta használnak. Jól ismert példák a francia sajtok (roquefort) és a fermentált kolbászok előállítása, valamint Ázsiában a szójaszószt gyártás. A gyümölcshulladékok (szubsztrát) szilárd állapotú fermentációja szintén pár évtizede alkalmazott módszer olyan vegyületeket előállítására, mint amilyen az etanol, különböző enzimek és savak (galluszsav, ecetsav).

Egyes kutatások kimutatták, hogy a mikrobiálisan fermentált ételek, kiváltképp a szilárd állapotú fermentált ételek fogyasztásának számos egészségügyi előnyei vannak. Vizsgálatokban gyümölcshulladék, amerikai tőzegáfonya törkölyt, szilárd fázisú fermentálásánál a *Rhizopus oligosporus* és *Lentinus edodes* élelmiszer gombafajtákat alkalmazták. Ezek a tanulmányok azt az eredményt mutatták, hogy a szilárd fázisú fermentáció közben a gombák növekedési folyamatai alatt a törkölykivonatok antioxidáns aktivitása és fenolos tartalma többszörösére növekedett. Az eljárás a funkcionális fenolok feldúsulását eredményezte. Azt gyanítják, hogy a fenolos és antioxidáns aktivitás növekedés betudható a gombák változatos hidrolizáló enzim termelődésének.

Ezek a hidrolázok, mint amilyenek a glükózidázok és frukto-furanozidázok, valószínűleg a hidrolizálhatták a glikozidos kötések a fenol csoportok és a cukrok között. Ezért, ha szabad fenolok szabadulnak fel a glikozidos kötésből, akkor megnövelhető az antioxidáns aktivitás és az egészségre gyakorolt kedvező hatás. Ez azért fontos, mert a fenolok egy része glikozilált formában található a növényekben és az ilyen fenolok biológiai elérhetősége a szervezet számára alacsony, mert a sejtmembránon nem tudnak átjutni. Ahhoz, hogy a vékonybélben keresztül megtörténjen ezeknek a vegyületeknek a passzív felszívódása, szükség van a glükozidos kötés bontására. Tehát ebből az a következtetés vonható le, hogy a törköly szilárd fázisú fermentációjának segítségével a gyümölcsleveken illetve borokban megnövelhető a szabad fenolok koncentrációja, valamint gazdagítható ízük, illatuk, aromájuk, és így növelhető az egészségre gyakorolt funkcionális hatásuk (Vattem and Shetty, 2003; Vattem et. al., 2005).

2. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A dolgozat kísérleti munkáját a Szegedi Tudományegyetem Mérnöki Kar mikrobiológia és kémia laboratóriumaiban végeztük.

2.1. Felhasznált anyagok

2.1.1. Mikrobiológia laborban használt anyagok

Gyümölcsök:

- fekete ribizli (*Ribes nigrum*)
- josta (*Ribes nidigrolaria* Bauer)

Mikroorganizmus:

- *Mucor corticolus* (malátás táptalajon)

Egyéb:

- szójaliszt
- malátás táptalaj
- desztillált víz
- 50%-os etanol
- 0,5%-os sósavas metanol

2.1.2. Kémia laborban használt anyagok

Összes fenol-tartalom mérés:

- 95%-os etanol
- desztillált víz
- 50%-os Folin-Ciocalteu reagens
- 5%-os Na_2CO_3
- galluszsav

Gyökfogó kapacitás mérés:

- DPPH reagens
- 95%-os etanol

Vasredukáló képesség:

- 95%-os etanol
- 2,2'-dipiridil reagens
- Fe(III) reagens
- galluszsav

Összes antocián mérés:

- KCl puffer (pH 1.0)
- Na-acetát puffer (pH 4.5)

β -glükózidáz mérés:

- DNPG (4-nitrofenil β -D glikozid)
- p-nitrofenol
- Na_2CO_3
- pH 5 acetát puffer

2.2. Módszerek

2.2.1. A fekete ribiszke és a josta előkészítése

A kísérletre szánt mindkét mintát ugyanolyan módon készítettük elő. 1 kg gyümölcsöt szétnyomkodtunk, hogy a lé nagy mennyiségét eltávolítsuk. Ezután egy konyharuhába raktuk a visszamaradt gyümölcsöt, azt felakasztottuk és 24 órán át hagytuk kicsöpögni.

A visszamaradt hús és héjrészeket 72 órán át liofilizáltuk, majd egy konyhai daráló segítségével porrá őröltük. A mintákat a felhasználásig hűtőszekrényben (6°C) vagy fagyasztószekrényben (-18°C) tároltuk.

2.2.2. Szilárd fázisú fermentáció

A szilárd fázisú fermentációt a mikrobiológia laborban a következő módon végeztük: 100 ml-es Erlenmeyer lombikokba 2 g héj őrleményt, 0,5 g szójalisztet (nitrogénforrás) és 2,5 ml desztillált vizet mértünk össze. A mintákat kuktában sterilizáltuk, 120°C-on 15 percig, majd beoltottuk 100 μl *Mucor corticolus* spóra szuszpenzióval ($10^6/\text{ml}$ spóra).

A méréssorozatot kétszer végeztük el, de az 1. mérés során a fekete ribizli törkölyön csak a fermentáció utolsó napjaiban, míg a josta törkölyön egyáltalán nem nőtt ki a gomba. A fermentációt szoba hőmérsékleten végeztük, hiszen a *Mucor corticolus* hőmérséklet optimuma 20-25°C körül mozog, viszont az első mérést a kora tavaszi időszakban végeztük,

így feltehetőleg a labor hőmérséklete túl alacsony volt. Az első mérés eredményeinek tanulságán, a második mérést változtatásokkal hajtottuk végre. A szilárd fázisú fermentáció idejét megnöveltük, ritkábban vettünk mintát, a mintákat a 3. napon újra beoltottuk spóra szuszpenzióval és a gomba hőérzékenysége miatt az optimális hőmérsékletre is odafigyeltünk. Eredményeinket a második mérés során kaptuk.

1. 12 napig szobahőmérsékleten (kevesebb, mint 24°C-on). A mintavétel az 0., 3., 5., 8., 10. és 12. napon történt.

2. 16 napig szobahőmérsékleten (24°C-on). A mintavétel az 0., 5., 8., 12. és 15. napon történt.



6.ábra Szilárd fázisú fermentáció josta (bal oldal) és fekete ribizli (jobb oldal) törkölyön

2.2.3. Mintavétel

1. Minden mintavételi napon 3 lombikot vettünk ki. Ebből 2 lombik tartalmát, a gombafonallal átszőtt héjat, petricsészébe kapartuk át és 60°C-os szárítószekrénybe helyeztük egy éjszakára. A harmadik lombik tartalmából kivonatot készítettünk. A mintához 30 ml desztillált vizet adtunk, felráztuk, majd 24 órát állni hagytuk.



7.ábra A gombafonallal átszótt héj

2. Másnap a kiszáritott mintákat kivettük a szárítószekrényből és porrá őröltük egy dörzsmozsár segítségével. Majd ezekre is extraháló oldatot öntöttünk. Az egyikre 30 ml 50%-os etanolt, míg a másikra 10 ml 0,5%-os sósavas metanol oldatot. A kivonatokat alapos összerázás után szintén 24 órán át állni hagytuk. A desztillált vizes kivonatot leszűrtük, majd fagyasztva tároltuk.
3. A harmadik napon a másik két kivonattal is hasonló módon jártunk el, leszűrtük és lefagyasztottuk a felülúszókat.

2.2.4. Hatóanyag vizsgálatok

Minden mérés során 3 párhuzamos oldatot készítettünk és mértünk meg a lefagyasztott kivonatokból, a fekete ribizlinél és a jostánál egyaránt.

- Összes fenol tartalom meghatározása (Vattem, Shetty., 2003):
A méréshez az 50%-os etanolos kivonatot használtunk.

1. 1,0 ml megfelelően hígított kivonat (az abszorbanciája nem haladta meg a 100 μ g/ml-es kalibrátorét) + 1,0 ml 95%-os etanol + 5,0 ml desztillált víz + 0,5 ml 50%-os Folin-Ciocalteu reagens
2. alapos összerázás, 5 perc állás után
3. + 1,0 ml 5%-os Na_2CO_3
4. szobahőmérsékleten (24°C), sötétben, 60 perc állás után
5. abszorbanciamérés 725 nm-en
6. A kalibrációt galluszsavra végezzük, a számolás ennek segítségével történik. A koncentrációt [μ g/ml] a kalibráció egyenes egyenletéből

fejezzük ki. Az összes fenol tartalom eredményeket μg galluszsav ekvivalens fenol/g száraz héj tömegre számoljuk át az alábbi egyenlet segítségével:

$$= \frac{x * \text{hígítás} * \text{extraháló oldat mennyisége}}{\text{bemért héj mennyisége}}$$

3.táblázat Galluszsav kalibráció

Koncentráció ($\mu\text{g/ml}$)	Törzsoldat (1mg/ml) (ml)	Etanol (ml)
0	0,0	1,0
20	0,2	0,8
40	0,4	0,6
60	0,6	0,4
80	0,8	0,2
100	1,0	0,0

- Gyökfogó kapacitás- DPPH módszer- meghatározása (Vattem, Shetty, 2003):

A méréshez az 50%-os etanolos kivonatból használtunk fel.

1. 0,5 ml megfelelően hígított kivonat (legjobb az összes fenol meghatározáshoz használt hígítás) + 3,0 ml 200 μM -os DPPH oldat
2. szobahőmérsékleten, sötétben 30 perc állás után
3. a minták, a kontrollt (etanol) és a 200 μM -os DPPH oldat (abszorbancia 0,7 és 1,0 között) abszorbancia mérése 517 nm-en
4. Az eredményeket %-os gyökfogó kapacitásban adjuk meg, amely az alábbi képlettel számolható ki:

$$= \left(\frac{\text{kontroll abszorbanciája} - \text{minta abszorbanciája}}{\text{kontroll abszorbanciája}} \right) * 100$$

- Vasredukáló képesség

A méréshez az 50%-os etanolos kivonatból használtunk fel.

1. a fotometriás oldathoz 2,0 ml minta + 6,0 ml etanol
2. az oldatokhoz egyenként 1,0 ml 2,2'- dipiridil reagens + 1,0 ml Fe (III) reagens

3. a Fe (III) hozzáadása után két perc múlva abszorbancia mérés
520 nm-en

4. A kalibrációt aszkorbinsavra végezzük, a számolás ennek segítségével történik. A koncentrációt [$\mu\text{g/ml}$] a kalibráció egyenes egyenletéből fejezzük ki. Az eredményeket μg aszkorbinsav ekvivalens/ g liofilizett héjra számoljuk át az alábbi egyenlet segítségével:

$$= \frac{x * \text{hígítás} * \text{extraháló oldat mennyisége}}{\text{bemért héj mennyisége}}$$

4. táblázat Aszkorbinsav kalibráció

Koncentráció ($\mu\text{g/ml}$)	Törzsoldat (ml)	Etanol (ml)
17,5	0,2	1,8
26,25	0,3	1,7
35,0	0,4	1,6
43,75	0,5	1,5
52,5	0,6	1,4
70	0,8	1,2

- Összes antocián tartalom meghatározása pH különbség módszerrel:

A méréshez az 0,5%-os sósavas metanolos kivonatot használtuk.

1. A méréshez két féle fotometriás oldatot készítettünk, amely során 0,5 ml mintához 4,5 ml puffer A vagy puffer B oldatot adtunk hozzá
2. A: pH 1-es KCl puffer oldat
3. B: pH 4,5-ös Na-acetát puffer oldat
1. Minden A és B puffer oldatos minta mérése 520 és 700 nm-en egyaránt
4. A számoláshoz a Lambert-Beer törvényt kell használtuk:

$$A = \varepsilon * l * c$$

$$A = (A_{520} - A_{700})_{pH1} - (A_{520} - A_{700})_{pH2}$$

A totál antocián eredményeket cianidin-3-glükózid ekvivalensre számolva $\mu\text{g/g}$ -ra adtuk meg, amelyet az alábbi egyenlet alapján számolunk:

$$= \frac{A * 449,2 * \text{hígítás} * 1000 * \text{extraháló oldat térfogata}}{26900 * \text{bemért héj}}$$

- β -glükózidáz aktivitásmérés:
 1. a reakcióelegy összemérése: 1,6 ml pH 5.0 10 mM/l acetát puffert + 0,2 ml 7mM/l PNPG + 0,2 ml megfelelően hígított enzim (a minta)
 2. A reakcióelegyet 50°C-on 30 percig kell inkubáltuk
 3. A reakciót 0,5 ml 100mM Na₂CO₃-al állítottuk le
 4. Az abszorbanciát 405nm-en mérjük, a kalibrációt ismert koncentrációjú p-nitrofenil-foszfáttal kell végeztük. Az egyenes egyenletéből lehet kiszámolni az enzim által átalakított anyag koncentrációját. Az eredményeket Unit-ban adjuk meg (μ mol átalakított anyag/ perc), amelyet az alábbi képlettel számoltunk ki:

$$= \frac{x * \text{hígítás} * 1000}{30}$$

5.táblázat A10mmol/l-es p.nitrofenil-foszfáthoz tartozó kalibráció

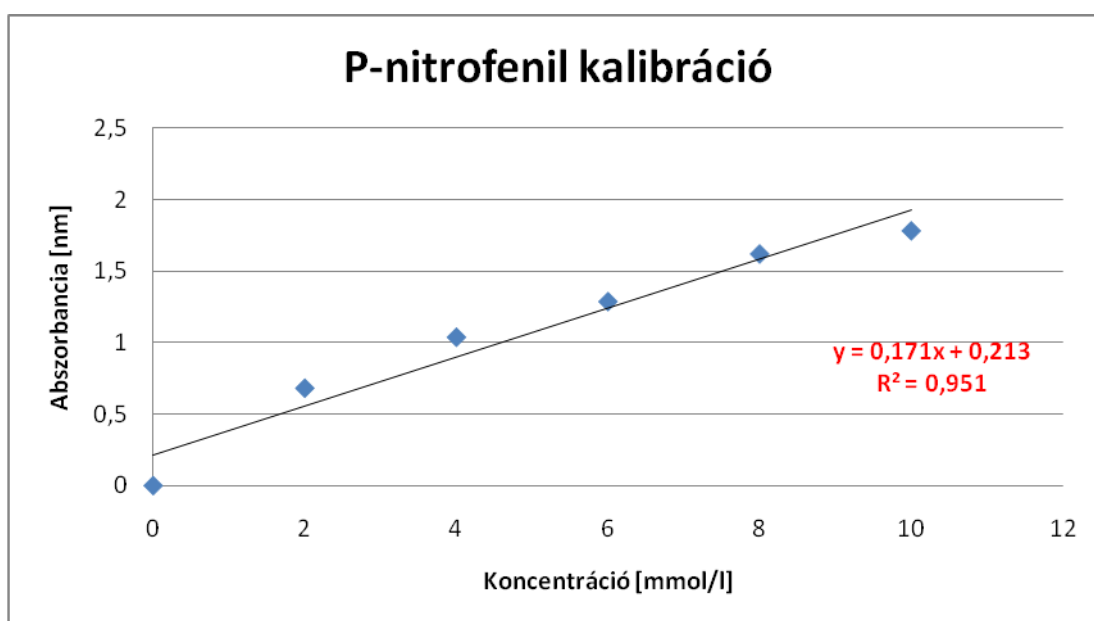
Koncentráció	Desztillált víz (ml)	p-nitrofenil-foszfát (ml)
0	2,0	0,0
2	1,8	0,2
4	1,6	0,4
6	1,4	0,6
8	1,2	0,8
10	1,0	1,0

3. EREDMÉNYEK, ÉRTÉKELEÉS

Célkitűzésünk volt megvizsgálni, hogy hogyan befolyásolja a különböző fajtájú gyümölcsök (fekete ribizli és josta) levének kipréslése után visszamaradt törköly fenol összetételét és antioxidáns tulajdonságait a β -glükózidázt termelő *Mucor corticolus* fonalas gombával végzett szilárd fázisú fermentáció. Ezen kívül célunk volt a szilárd fázisú fermentáció során használt gomba által termelt β -glükózidáz enzim aktivitásának meghatározása. Mivel a 12 napos kísérleteink során nem tapasztaltunk jelentős változást, ezért 16 napos méréseket is végeztünk. Eredményeink a következők:

3.1. Béta-glükózidáz aktivitás

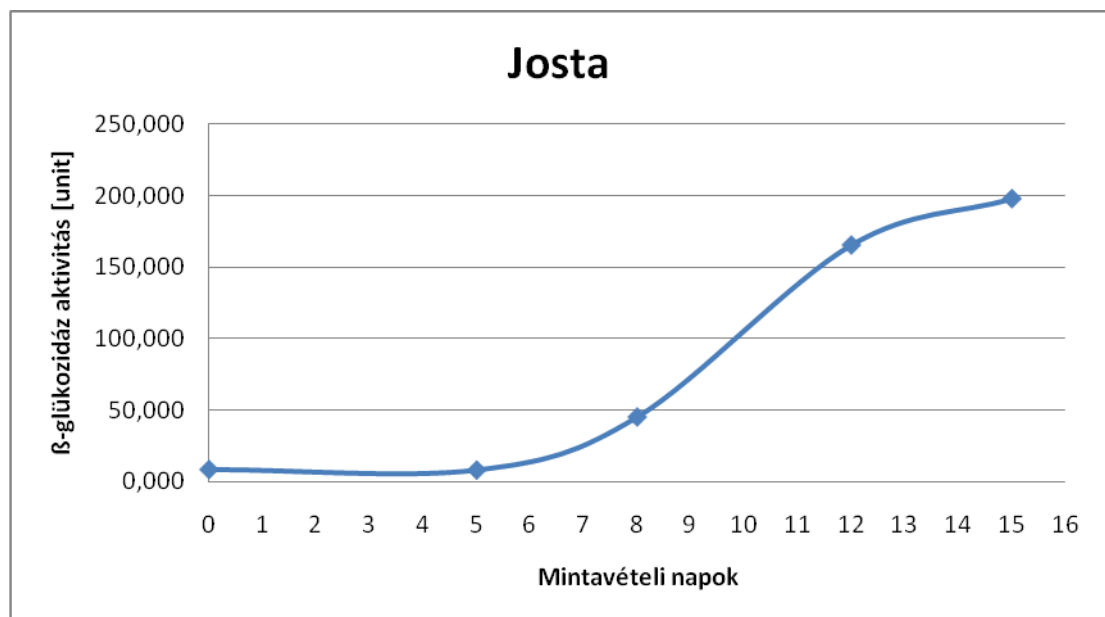
A *Mucor corticolus* által termelt β -glükózidáz enzim képes lehasítani a fenolos vegyületek cukorrészét, s azok így fel tudnak szívódni a szervezetben. A mérés során a para-nitrofenil- β -D-glükózidból a cukorrész lehasításával para-nitrofenol szabadul fel, melyet sárga színváltozás jelez. A számoláshoz az alábbi kalibrációs egyenest használtuk:



8.ábra Para-nitrofenil kalibráció



9.ábra A *Mucor corticolus* enzimaktivitása a fekete ribizli törkölyön a szilárd fázisú fermentáció során



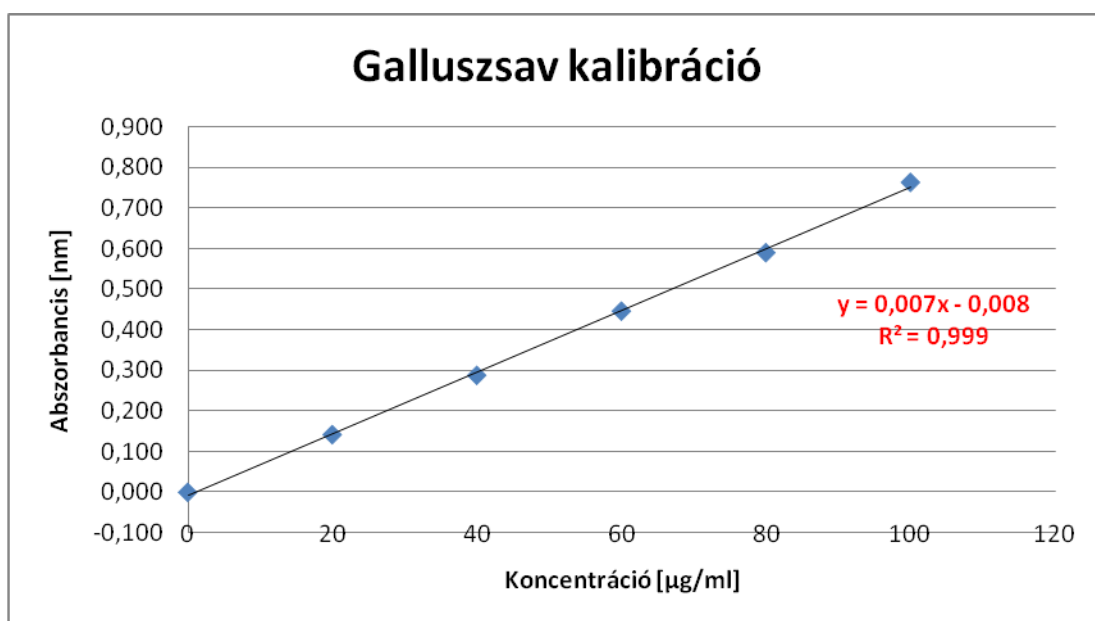
10.ábra A *Mucor corticolus* enzimaktivitása a josta törkölyön a szilárd fázisú fermentáció során

A grafikonokról leolvasható, hogy mindkét gyümölcs esetében a gomba termelt β-glükózidáz enzimet. A mintákat a 3. napon újra beoltottuk spóra szuszpenzióval, így megemeltük az inokulum mennyiségét, ezután a gomba növekedése be is indult.

A fekete ribizli esetén az 5. napon látjuk az enzimtermelés beindulását és a 8. naptól kezdve ez jelentősen növekedik is. A josta esetében az enzimtermelés csak a 8. naptól figyelhető meg, amelyet szintén folyamatos emelkedés követ. Az is jól látható az ábrákról, hogy a fekete ribizlire oltott gomba közel kétszer annyi mennyiségű enzimet termelt. A fermentáció alatt a különbség szemmel is jól megfigyelhető volt, hiszen a fekete ribizlin a *Mucor corticolus* sokkal nagyobb telepeket hozott létre. Ebből az a következtetés vonható le, hogy a josta sokkal nagyobb mennyiségben tartalmaz antifungális anyagokat.

3.2. Összes fenol tartalom

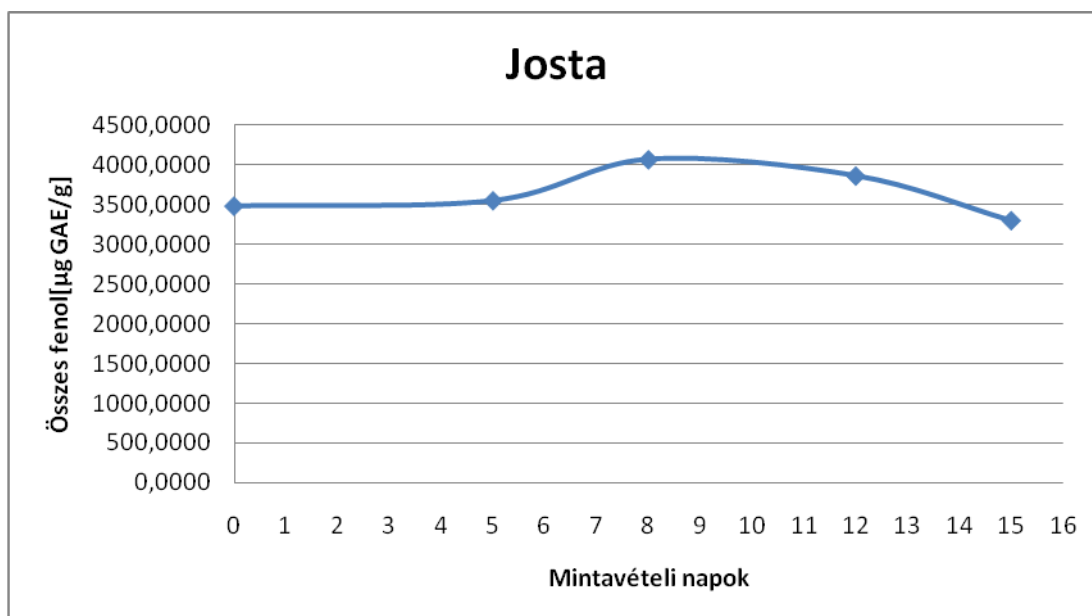
A totál fenol tartalom meghatározásához Folin-Ciocalteu módszert használtuk, amely során a mintában jelenlévő hidroxil csoportok reagálnak a foszfomolibdén-foszfotungstik sav molibdénjével. A Mo (VI) Mo (V)-té redukálódik, amit a reagens kék színváltozása kísér. A fenol tartalmat galluszsav ekvivalensben adtuk meg, az ehhez tartozó galluszsav kalibráció a következő volt:



11.ábra A galluszsav kalibráció az egyenes egyenlettel és az R^2 értékkel



12.ábra A fekete ribizli összes fenol tartalom változása a szilárd fázisú fermentáció során



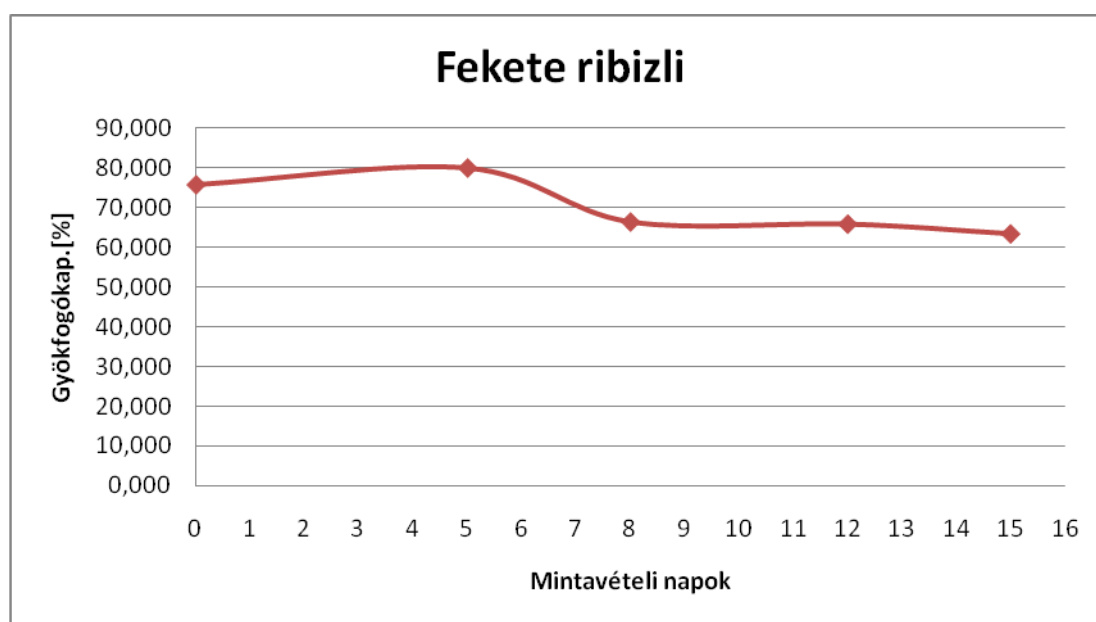
13.ábra A josta összes fenol tartalom változása a szilárd fázisú fermentáció során

Az 5. grafikonról leolvasható, hogy a fekete ribizli összes fenol tartalma az 5. napon megemelkedett, amely egybeesik az enzimaktivitás beindulásával. Ez feltehetően annak köszönhető, hogy a β -glükózidáz kiszabadította a hidroxil-csoportokat. A jostánál hasonló adatokat kaptunk, mint a fekete ribizlinél. Az összes fenol tartalom ebben az esetben is emelkedett, mégpedig azon a napon, amikor a gomba enzim termelése beindult.

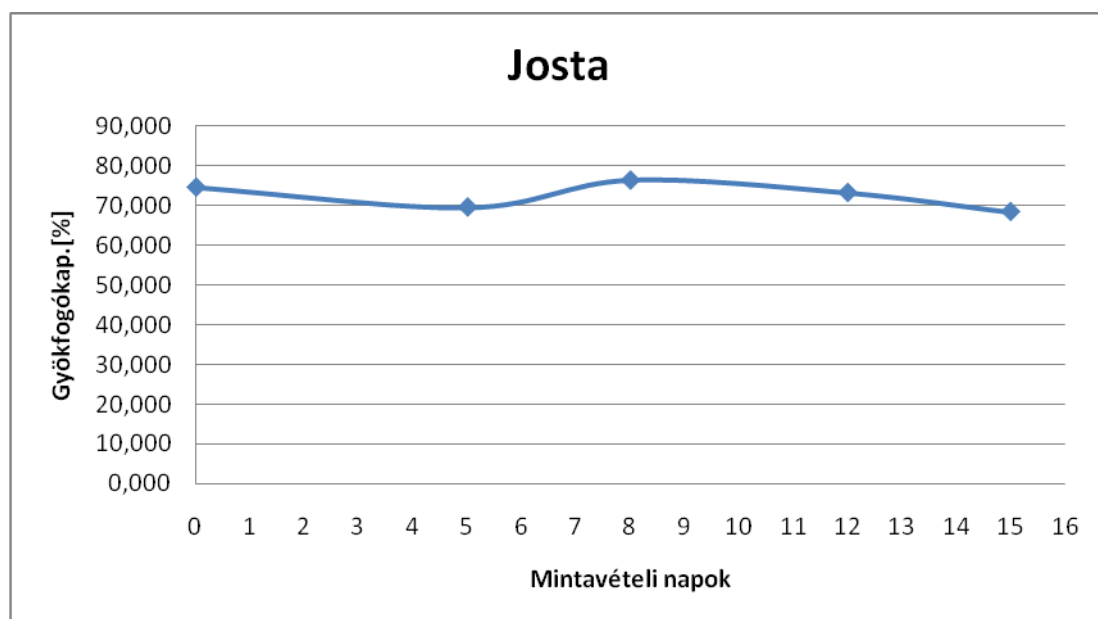
A növekedés a josta törkölyön ez a 8. napon következett be. Mindkét gyümölcsnél az emelkedést az összes fenol tartalom lassú csökkenése követte a fermentáció további napjaiban.

3.3. Szabadgyökfogó kapacitás

A DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) egy mesterséges stabil szabadgyök, amely oldatban lila színű. A DPPH könnyen reakcióba lép a törkölyben található antioxidáns hatású molekulákkal és ezek 2,2'-difenil-pikrilhidrazinná alakítják, amely szalmasárga elszíneződést okoz. Minél halványabb a minta, annál nagyobb a szabadgyökfogó kapacitása.



14.ábra A fekete ribizli szabadgyökfogó kapacitásának változása a szilárd fázisú fermentáció során

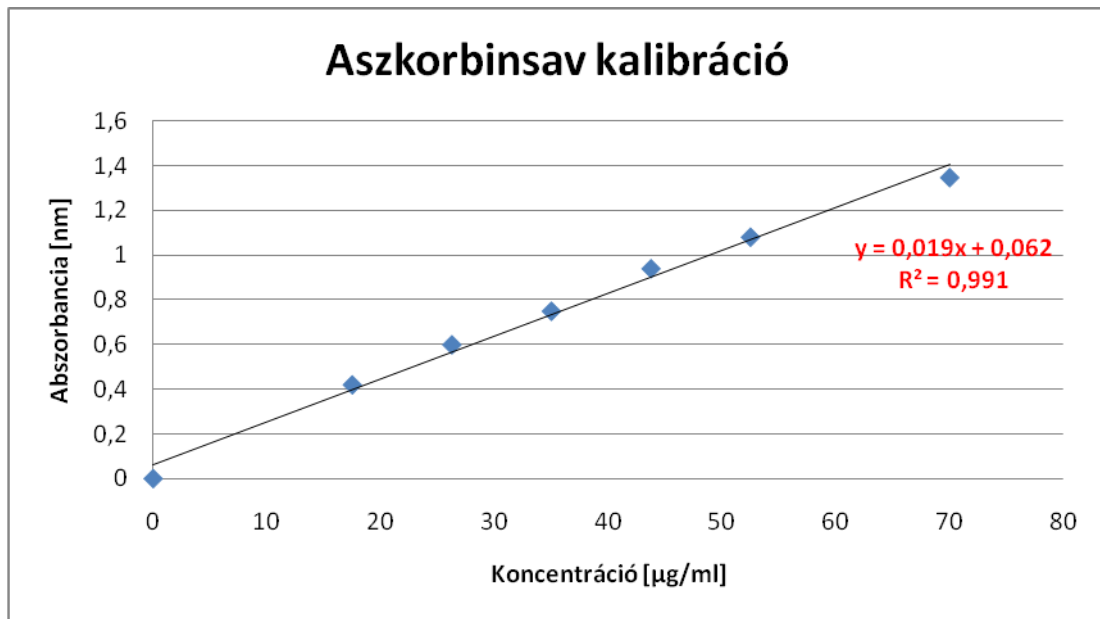


15.ábra A josta szabadgyökfogó kapacitásának változása a szilárd fázisú fermentáció során

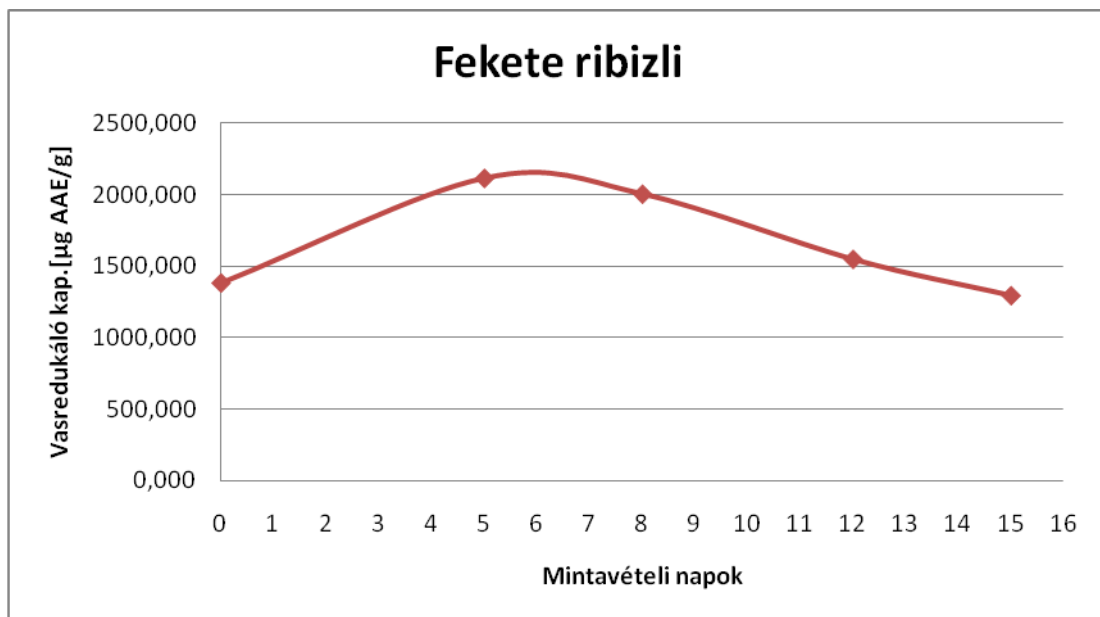
A szabadgyökfogó kapacitás mind a fekete ribizli, mind a josta esetén a mérés sorozat során hasonló értékeket mutatott, jelentős eltérés nem volt tapasztalható a 15 nap alatt.

3.4. Vasredukáló képesség

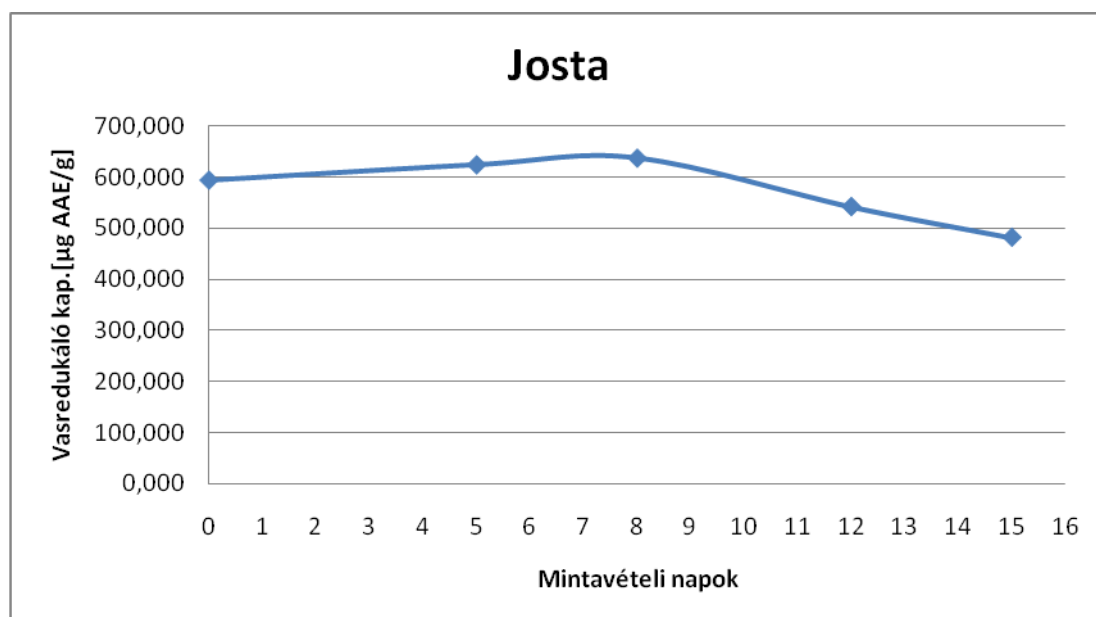
A vizsgálat arra alapul, hogy a minták antioxidáns hatású anyagai a Fe(III) tartalmú reagens oldatot Fe(II)-vé redukálják, ami 2,2'-dipiridillel piros színű komplexet alkot. Az antioxidáns hatású anyagok mennyisége a komplex színintenzitásával arányosak. A vasredukáló képesség értékeket aszkorbinsav ekvivalensben adtuk meg, az aszkorbinsav kalibráció a következő volt:



16.ábra Az aszkorbinsav kalibráció az egyenes egyenlettel és az R^2 értékkel



17.ábra A fekete ribizli vasredukáló képességének változása a szilárd fázisú fermentáció során



18.ábra A josta vasredukáló képességének változása a szilárd fázisú fermentáció során

A fekete ribizli vasredukáló képességében növekedés tapasztalható az 5. napon, amelyet egy lassú fokozatos csökkenés követ, míg a josta a 8. napon mutat kis emelkedést, amelyet szintén csökkenés követ. Mindkét görbe hasonlóságot mutat az összes fenol tartalom változását ábrázoló grafikonokkal.

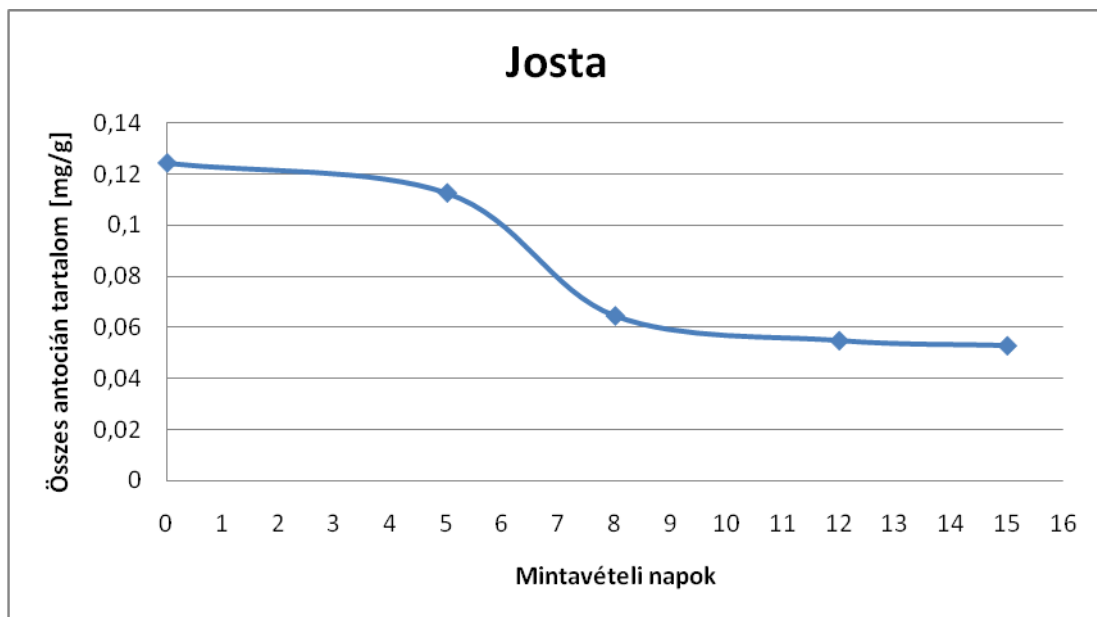
3.5. Összes antocián tartalom

A mérést pH különbség módszerrel hajtottam végre, amely azon alapul, hogy az antociánok reagálnak a környezet pH-ra. Lúgos közegben kék, vagy sárga színűek, míg savas közegben pirosak. A mérést két hullámhosszon is el kell végezni, hogy a magasabb hullámhosszon abszorpció maximumot adó egyéb színanyagokat is kiszűrjük. A mérést pH 1 és pH 4,5 pufferrel végeztem. A számolás a Beer-Lambert törvény alapján történik:

$$A = \varepsilon * l * c$$



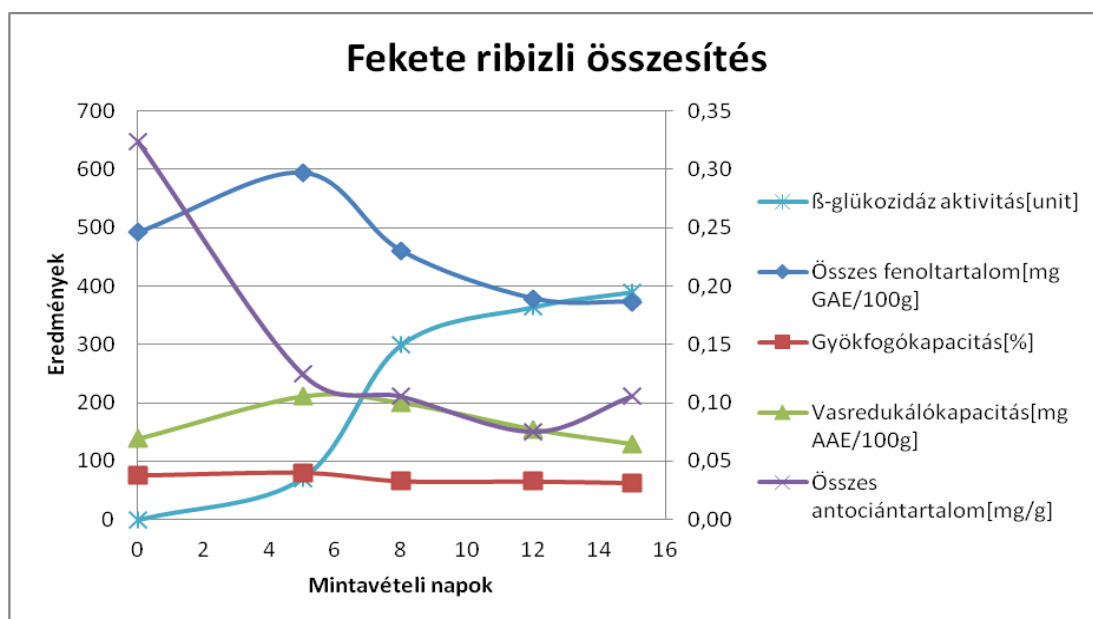
19.ábra A fekete ribizli összes antocián tartalmának változása a szilárd fázisú fermentáció során



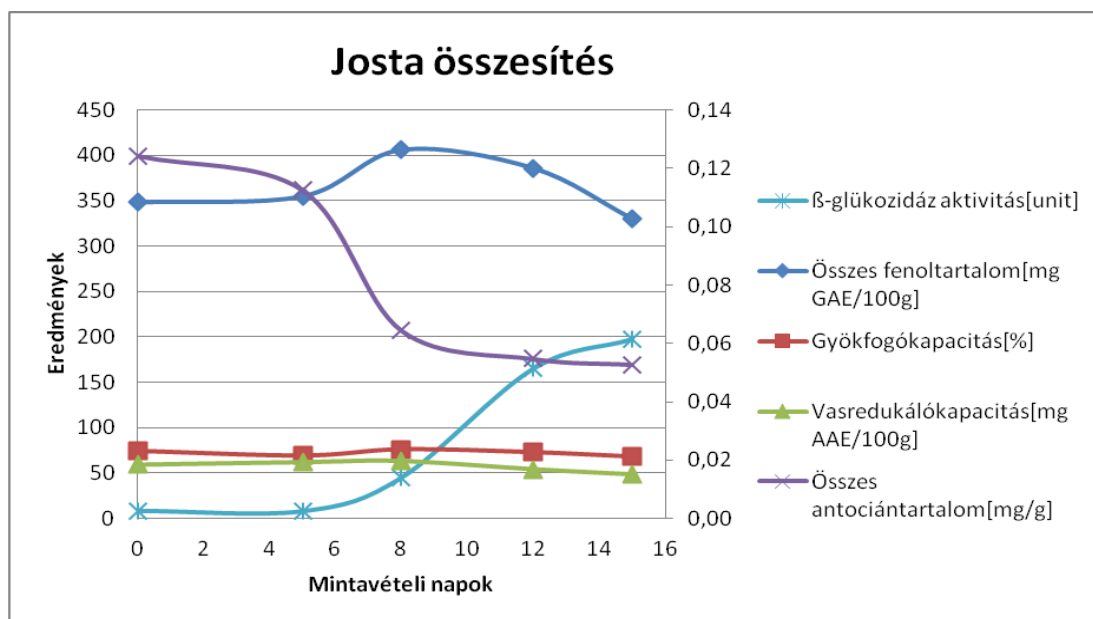
20.ábra A josta összes antocián tartalmának változása a szilárd fázisú fermentáció során

Mindkét gyümölcs esetében a mérés során egy folyamatos csökkenés figyelhető meg, amelynek az lehet az oka, hogy a gomba felhasználja, eloxidálja az antociánokat. Ezenkívül az összes fenol tartalom csökkenése is hatással van az antocián mennyiségre. Minden mintánál megfigyelhető volt, a pufferoldat hozzáadása után, az oldat zavarosodása. Így az összes mintát le kellett szűrni az abszorbancia mérés előtt.

3.6. A mérések összehasonlítása

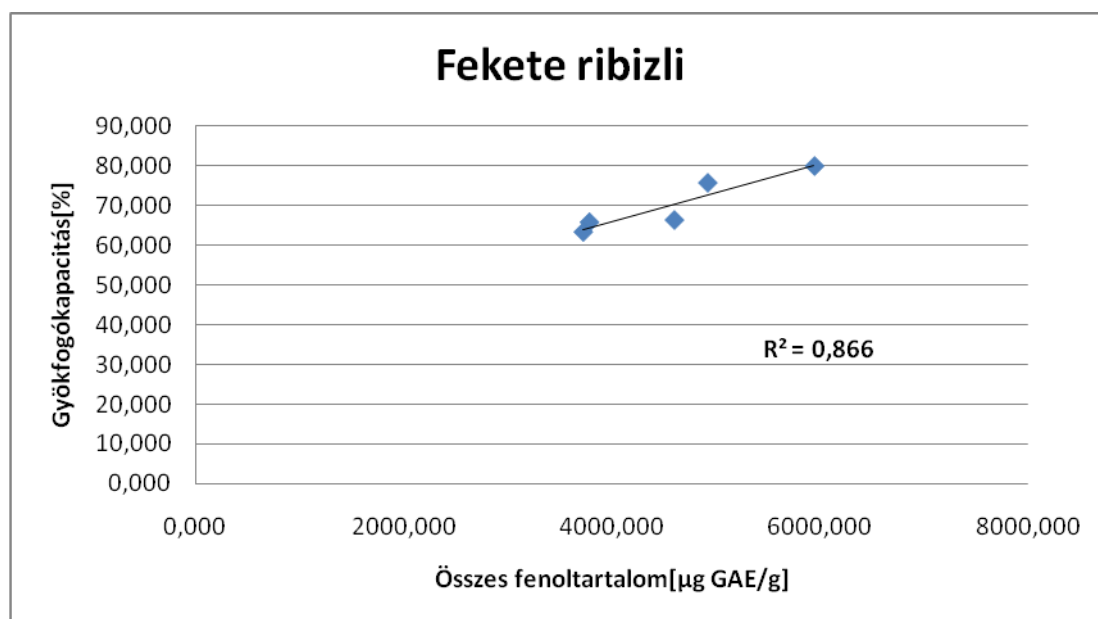


21.ábra A fekete ribizli mérési eredményeinek összesítése

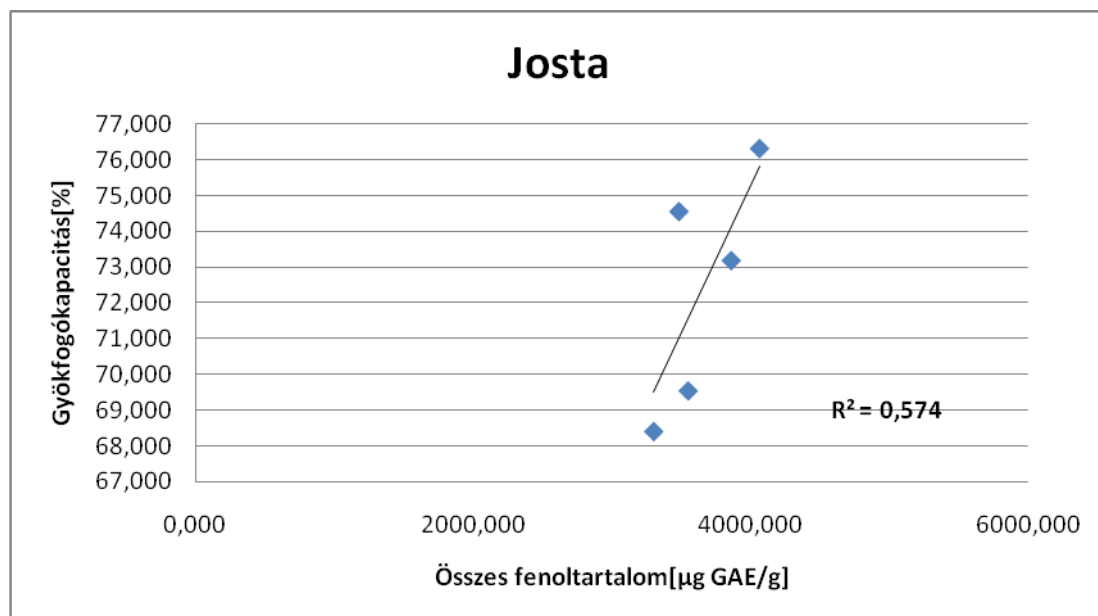


22.ábra A josta mérési eredményeinek összesítése

Mindkét gyümölcs esetében az figyelhető meg, hogy az enzintermelés beindulásával azonos napon növekszik az összes fenol tartalom és a vasredukáló képesség egyaránt, amelyet azután csökkenés követ a szilárd fázisú fermentáció későbbi napjaiban. A gyökfogó kapacitás közel azonos értékeket mutatott, míg az összes antocián tartalom a mérések során folyamatos csökkenést mutatott.



23.ábra A fekete ribizli szabadgyökfogó kapacitása az összes fenol tartalom függvényében



24.ábra A josta szabadgyökfogó kapacitása az összes fenol tartalom függvényében

Kíváncsiak voltunk, hogy fellelhető-e valamilyen arányosság a különböző értékek között. Így megnéztük, hogy fennáll-e az egyenes arányosság az összes fenol tartalom, valamint a szabadgyökfogó kapacitás és a vasredukáló képesség között. Ha R^2 értéke nagyobb, mint 0,7, akkor elmondható, hogy az arányosság fennáll. A vasredukáló képesség és az összes fenol tartalom között nem, de a gyökfogó kapacitás és a totál fenol tartalom között találtunk összefüggést. A fekete ribizli esetében az $R^2 = 0,866$, míg a josta esetében $R^2 = 0,5747$. Tehát a két gyümölcs közül a fekete ribizlinél volt tapasztalható egyenes arányosság az összes fenol tartalom és a szabadgyökfogó kapacitás között.

4. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk során célkitűzésünk volt megvizsgálni, hogy hogyan befolyásolja a különböző fajtájú gyümölcsök (fekete ribizli és josta) levének kipréselése után visszamaradt törköly fenol összetételét és antioxidáns tulajdonságait a β -glükózidázt termelő *Mucor corticolus* fonalas gombával végzett szilárd fázisú fermentáció. A mérés során a gomba növekedett a törkölyökön és enzimtermelése is beindult a fekete ribizlin az 5., míg a josta esetében a 8. napon. A két gyümölcs közötti eltérés abban is megfigyelhető volt, hogy a josta mintákon a gomba sokkal kisebb telepeket hozott létre. Mindkét gyümölcs esetében az figyelhető meg, hogy az enzimtermelés beindulásával azonos napon növekszik az összes fenol tartalom és a vasredukáló képesség egyaránt, amelyet azután csökkenés követ a szilárd fázisú fermentáció későbbi napjaiban. A gyökfogó kapacitás közel azonos értékeket mutatott a fermentáció során, de itt is megfigyelhető volt kisebb növekedés az enzimtermelés beindulásakor. Az összes fenol tartalom és a szabadgyökfogó kapacitás között egyenes arányosság áll fenn. Az összes antocián tartalom pedig a mérések során folyamatos csökkenést mutatott. Az antocián tartalom csökkenése a fenol tartalom csökkenésével áll összefüggésben, hiszen mindkét gyümölcs esetében az összes fenol tartalom közel 10%-át teszik ki az antociánok.

Méréseink eredménye eltér az irodalmi forrásokban leírtakban tapasztaltaktól. Vatter és munkatársai (2003) az amerikai tőzegáfonya légyártás után visszamaradt törkölyén neveltek *Lentinus edodes* illetve *Rhizopus oligosporus* gombát szilárd fázisú fermentációval. Méréseik azt mutatták, hogy a szilárd fázisú fermentáció során nőtt az oldható szabad fenolok mennyisége és ezzel együtt az antioxidáns hatás is. A szabad fenolok mennyisége és az antioxidáns kapacitás összefüggésben volt a β -glükózidáz aktivitással és azonos helyen volt maximumuk. A mi eredményeinkre elmondható, hogy nincs egyenes összefüggés az enzimtermelés mennyisége és a fenol tartalom növekedése között.

Kizárólag az enzim termelés beindulásánál figyelhető meg a szabad fenolok mennyiségének emelkedése. Ez több dologgal is magyarázható. A β -glükózidázon kívül egyéb enzimek termelődése is előtérbe került, a polifenoloxidázok működése jelentősen csökkent a polifenolok mennyiségét. Ezenkívül a kevés víz jelenléte miatt transzglykozidáció is felléphet, amely során a cukrok és a fenolok újra összekapcsolódnak.

Méréseink alapján lehetséges a fekete ribizli és a josta törköly vízdoldható fenolos antioxidánsokkal való dúsítása *Mucor corticolus* gombával végzett szilárd fázisú

fermentációval, de a fermentációt hamarabb le kell állítani. Javasoljuk méréseink folytatását tisztított enzimmel való kezeléssel.

IRODALOMJEGYZÉK

Alves M. H., Campos-Takaki G. M., Porto A., Milanez A. I. (2002): Screening of *Mucor* spp. for the production of amylase, lipase, polygalacturonase and protease, *Braz. J. Microbiol.* 33, 325-330.

Bhanja T., Kumari A., Banerjee R. (2009): Enrichment of phenolics and free radical scavenging property of wheat koji prepared with two filamentous fungi, *Bioresource Technology* 100, 2861–2866.

Bhatia Y., Mishra S., Bisaria V. S. (2002): Microbial β -glucosidases: cloning, properties, and applications, *Crit. Rev. Biotechnol.* 22, 375-407.

Capocasa F., Scalzo J., Mezzetti B. és Battino M. (2008): Combining quality and antioxidant attributes in the strawberry, The role of genotype. *Food Chemistry* 111, 872-878.

Correia R. T. P., McCueb P., Magalhães M. M. A., Macêdo G. R. , Shetty K. (2004): Production of phenolic antioxidants by the solid-state bioconversion of pineapple waste mixed with soy flour using *Rhizopus oligosporus*, *Process Biochemistry* 39, 2167–2172.

Csapó J., Csapóné Kiss Zs. (2003): *Élelmiszer-kémia*, Mezőgazda Kiadó, Budapest, 338-343.

Csuka GY., Bárdos L., Ágota G. (2005): Természetes antioxidáns anyagok (β -karotin, E-vitamin és rozmaringörlemény) adagolása az oxidált zsírok káros hatásainak kivédésére. Japán fűrjekkel végzett modellkísérlet, *M. Á. L.*, 127, 413–421.

Davies K. J. A. (2000): Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *Iubmb Life* 50, 279-289.

Fehér J., Vereckei A. (1985): Szabadgyökreakeciók jelentősége az orvos-tudományban. *Biogal Gyógyszergyár-Biotéka*, Debrecen

Frei B., Traber M. (2001): The new US dietary reference for vitamins C and E. *Redox Rep.*, 6, 5–9.

Géczi L. (2000): A köszméte, a ribiszke és a josta termesztése. *Mezőgazdasági Szaktudós Kiadó*, Budapest 179- 204.

Hajós Gy. (2008): *Élelmiszer-kémia*. Akadémiai Kiadó, Budapest, 105-140, 450-462.

Hertog, M.G. L., Hollman, P.C.H., Katan, M.B. (1992): Content of potentially anticarcinogenic flavonoids in 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40, 2379-2383.

Jakucs E., Vajna L. (2003:) *Mikológia*. Agroinform Kiadó, Budapest

Jordheim M., Mage F., Andersen Q.M. (2007): Anthocyanins in Berries of *Ribes* Including Gooseberry Cultivars with a High Content of Acylated Pigments, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 5529-5535.

Krisch J. (2014): Növényi hatóanyagok egyetemi jegyzet, Szeged, 2-17.

Lugasi A., Hóvári J., Kádár G. és Dénes F. (2011): Phenolics in raspberry, blackberry and currant cultivars grown in Hungary, *Acta Alimentaria*, Vol. 40(1), 52-64.

Matsuo M., T. Kaneko. (2000): The chemistry of reactive oxygen specieses and related free radicals. In: *Free Radicals in Exercise and Aging, Human Kinetics*, Chapter 1, 1-34.

Mojzis J., Varinska L., Mojziso G., Kostova I. és Mirossay L. (2008): Antiangiogenic effects of flavonoids and chalcones, *Pharmacological Research*, (57), 259-265.

Novák L., Nyitrai J. (2001): Biomolekulák kémiája. Magyar Kémikusok Egyesülete, Budapest, 160.

Papp J. és Porpáczy A. (1999): Szeder, ribiszke, köszméte, különleges gyümölcsök, *Bogyógyümölcsűek II., Ribizsketermesztés, Mezőgazda Kiadó, Budapest*, 50-86.

Papp J. és Porpáczy A. (1999): Szeder, ribiszke, köszméte, különleges gyümölcsök, *Bogyógyümölcsűek II., Különleges bogyógyümölcsűek, Mezőgazda Kiadó, Budapest*, 188-190.

Passwater, R. A. (1999): Fókuszban az antioxidánsok. Alexandra Kiadó, Pécs

Stocker R., Frei B. (1991): *Oxidative stress: Oxidants and antioxidants*; Academic Press, London, 213–243.

Tarr F. (2002): A flavanoidok, Nyíregyházi Főiskola Fizika Tanszék, Nyíregyháza-debrecen, 17-28.

Vattem D.A. and Shetty K., (2003): Ellagic acid production and antioxidant activity in cranberry pomace (*Vaccinium macrocarpon*) mediated by *Lentinus edodes* using a solid-state system, *Process Biochemistry* 39, 367-379.

Vattem, D. A., Lin, Y.-T., Labbe, R.G., Shetty, K. (2003): Phenolic antioxidant mobilization in cranberry pomace by solid-state bioprocessing using food grade fungus *Lentinus edodes* and effect on antimicrobial activity against select food borne pathogens, *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 5, 81-91.

Vattem, D. A., Ghaedian, R., Shetty, K. (2005): Enhancing health benefits of berries through phenolic antioxidant enrichment: focus on cranberry, *Asia Pac J Clin Nutr* 14, 120-130.

Vinczer P. (1995): Szabadgyökök szerepe a szervezet biológiai egyensúlyában. Természetgyógyász Magazin, november-december.

http://hu.wikipedia.org/wiki/Fekete_ribiszke#mediaviewer/F%C3%A1jl:Schwarzejohannisbeere.jpg (2014.10.28)

http://hu.wikipedia.org/wiki/Josta#mediaviewer/F%C3%A1jl:Ribes_nidrigolaria.jpg (2014.10.28)

<http://en.wikipedia.org/wiki/Flavonoid> (2014.10.28.)