

Szakdolgozat

Patak Bálint Ferenc

**Budapest
2025**



**Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Budapesti Campus**

**Biomérvnök és Erjedésipar Technológia Tanszék
Biomérvnői alapképzési szak**

**Aflatoxin termelő penészek szaporodásának és toxintermelésének
gátlása probiotikus tejsavbaktériumokkal**

Belső konzulens: Dr. Zalán Zsolt
tudományos főmunkatárs

Belső konzulens
intézete/tanszéke: MATE, Budai Campus
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet, Biomérvnök és Erjedésipari Technológiai Tanszék

Belső konzulens: Horváthné Dr. Szanics Enikő
tudományos főmunkatárs

Belső konzulens
intézete/tanszéke: MATE, Budai Campus
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet, Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék

Készítette: Patak Bálint Ferenc

**Képzési hely: MATE Budai Campus
2025**

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzések	5
2. Szakirodalmi áttekintés	7
2.1. Penészgombák	7
2.2. Mikotoxinok	8
2.2.1. A mikotoxinok humán-egészségügyi jelentősége	9
2.2.2. A mikotoxinok állat egészségügyi jelentősége	10
2.3. Aflatoxinok	12
2.3.1. Az aflatoxinok szerkezete és akut hatásaik	13
2.4. Az <i>Aspergillus flavus</i> és az általa termelt aflatoxin B1	14
2.5. A penészgombák meghatározásának lehetőségei	17
2.6. Mikotoxinmentesítési módszerek	20
2.7. Tejsavbaktériumok	21
3. Felhasznált anyagok és alkalmazott módszerek	24
3.1. Felhasznált penész és probiotikus tejsavbaktériumok, táptalajok, oldatok	24
3.2. Módszerek	25
3.2.1. Gátlási vizsgálat – kétrétegű agar módszer	25
3.2.2. Spóraszámlálás	25
3.2.3. Penészgomba növekedésének gátlása cseppentéses módszerrel	26
3.2.4. Tejsavbaktériumok és spóraszám koncentrációjának hatása a penésznövekedés gátlására	26
3.2.5. Az telepek átmérőváltozásának nyomon követése – kinetikai vizsgálatuk	27
3.2.6. Spóráképződés vizsgálata	27
3.2.7. Sarjadzás vizsgálat	27
3.2.8. Gátlás kenyéren	28
3.2.9. Statisztikai kiértékelés	29
3.2.10. Az Aflatoxin B1 meghatározása RP-HPLC módszerrel	29
4. Eredmények és értékelés	31
4.1. Kétrétegű agar módszerrel végzett gátlási kísérlet eredményei	31

4.2. Penészgomba növekedésének változása cseppentéssel vizsgálat alapján	33
4.3. Gátlás vizsgálat különböző koncentrációk esetén	34
4.4. Az <i>A. flavus</i> Zt41 telepnövekedési kinetikája a probiotikus baktériumok hatására	35
4.5. Spóráképződés változása baktériumok hatására	36
4.6. Baktériumok hatása a spóra-sarjadzásra	37
4.7. Penészgomba gátlása probiotikus baktériumokkal kenyéren	40
4.8. Kenyérmintán kinőtt penésztelepek és spórák számának statisztikai összehasonlítása	42
4.9. Az Aflatoxin B1 képződésének változása probiotikus baktériumok hatására	45
5. Következtetések és javaslatok	49
6. Összefoglalás	50
7. Irodalomjegyzék	52
8. Táblázatok és ábrák jegyzéke	57

1. Bevezetés és célkitűzések

Az **aflatoxinok** a **mikotoxinok** csoportjába tartozó, **másodlagos anyagcseretermékek**, amelyeket főként az *Aspergillus flavus* és *Aspergillus parasiticus* penészgombák termelnek. Az aflatoxinok leggyakoribb típusai az **aflatoxin B1, B2, G1, G2**. Ezek közül az aflatoxin **B1 a legerősebb karcinogén**.

Káros hatásai többféleképpen nyilvánulhatnak meg. Ezek a toxinok úgynevezett hepatotoxinok. Májkárosodást, májrákot okozhatnak. Mivel sok, az élelmiszergyártásban használt alapanyag szennyeződhet az *Aspergillus* penészgombával, így a toxin esetleges megjelenése súlyos veszélyt hordoz magában. Az aflatoxinnal leginkább szennyezett termények és élelmiszerek a gabonafélék (kukorica, rizs, búza), az olajos magvak (földimogyoró, dió), és a fűszerek, tejtermékek.

A mikotoxinok előfordulásának, mennyiségük csökkentésének több lehetséges módja létezik. Ilyen például a mikotoxinok eltávolítása fizikai, kémiai és biológiai (mikroorganizmusok általi bontás vagy megkötés) úton. A biológiai megközelítés különösen ígéretes, mivel kíméletes és nem rontja az élelmiszerek minőségét.

A penészgátlás (szántóföld, élelmiszer), és ezzel a mikotoxin mentesítés a helyes tárolási körülmények, hőkezelés, csomagolástechnológia, illetve természetes gátlóanyagok (pl. szerves savak, növényi kivonatok, tejsavbaktériumok) alkalmazásával valósítható meg.

A tejsavbaktériumok (pl. *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus* fajok) antimikrobiális hatásuk révén képesek gátolni a toxintermelő penészek növekedését, valamint sejtfaluk és anyagcseretermékeik révén megkötni vagy lebontani a mikotoxinokat, köztük az aflatoxinokat is.

A kísérleteim arra irányultak a szakdolgozat elkészítése folyamán, hogy kiderítsem a kereskedelmi forgalomban is kapható probiotikus baktériumok közül, melyek alkalmasak az *Aspergillus flavus* ZT 41 -es toxintermelő törzs szaporodásának és toxintermelésének gátlására.

A kereskedelmi forgalomban kapható, probiotikus baktériumokon kívül az elvégzett kísérletek során megvizsgáltam egy szintén kereskedelemben is kapható élelmiszerkiegészítő termékből, a *BEBA OPTIpro 4 Junior* tejalapú anyatej-kiegészítő tápszerből izolált baktériumokat is.

Az aflatoxinokra nagyon szigorú határértékek vonatkoznak, főleg a gyermekeknek szánt termékek esetén is, így kíváncsi lettem, egy ilyen termékben található mikrobák milyen gátló, elimináló aktivitással rendelkeznek.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1. Penészgombák

A mikroszkopikus gombáknak két, gyakorlati szempontból lényeges csoportját különböztetjük meg, az élesztő- és penészgombákat. Egyik név sem fed egységes rendszertani kategóriát. Míg az élesztőgombák többnyire egysejtű, ivartalanul sarjadással vagy hasadással szaporodó gombák, ivaros szaporodásukkor termőtest általában nem képződik, addig a penészgombák olyan mikroszkopikus gombák, amelyek finom fonalas bevonatot képeznek a különböző szubsztrátokon, spórákkal vagy konídiumokkal szaporodnak.

Az élesztő- és penészgombák szinte mindenhol jelen vannak a környezetünkben, és az élelmiszeripar számára komoly kihívást jelentenek. Nemzetközi becslések szerint az általuk okozott veszteségek a globális élelmiszertermelés 5–10%-át is elérhetik – ez meghaladja az összes többi mikroorganizmus által okozott veszteséget.

A romlást okozó penészgombák a természetben, környezetünkben nagyrészt szaprobiotaként élnek, bár néhányuk élő anyagot, növényi, állati, emberi szervezetet is meg tud támadni. Az elsősorban parazita és növénykórokozó, illetve állatpatogén gombákat azonban nem szoktuk penészeknek tekinteni.

Élelmiszerek vonatkozásában különös jelentőségre tettek viszont szert a mikotoxinokat képző és ezáltal a fogyasztók egészségét súlyosan veszélyeztető penészgombák. Ezért az élelmiszer-tartósításnak mindig célja a penészgombák elleni védekezés is. A romlást okozó és toxintermelő penészekkel szemben azonban sok gomba faj értékes anyagokat is képez. Termékeik közt vannak antibiotikumok, szerves savak vagy enzimek (NNGYK - A penészgombák és a mikotoxinok).

A romlást okozó penészek megjelenése szerint megkülönböztethetünk **raktári** és **szántóföldi penészgombákat**.

A **szántóföldi penészgombák** már a szántóföldön, a növény fejlődése közben megfertőzik a termést. Ezek elsősorban a növény szöveteiben élnek és ott termelnek mikotoxinokat. A nedves, párás időjárás kedvez a megtelepedésüknek. Tipikusan ilyen fajok a *Fusarium* nemzetség tagjai (pl. *Fusarium graminearum*, *Fusarium verticillioides*). Többféle

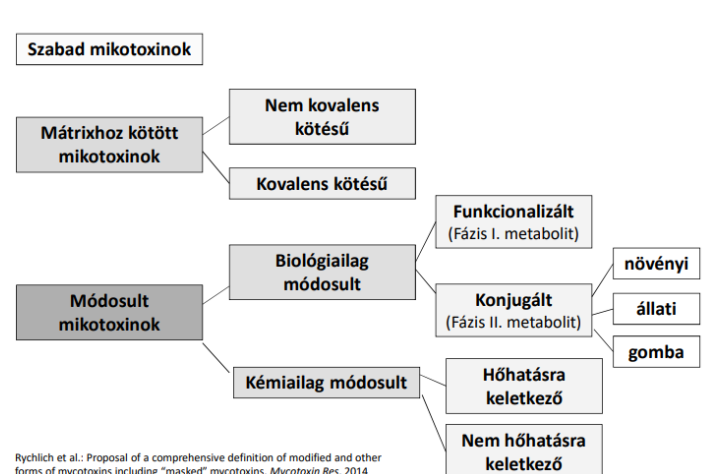
mikotoxint termelhetnek. Ilyenek a **DON (deoxinivalenol), fumonizin, zearalenon, T-2 toxin**.

A **raktári penészgombák** pedig a betakarítás után, a tárolás során támadják meg a terményt, ha a tárolási körülmények nem megfelelőek (pl. magas a páratartalom, rossz a szellőzés). Meleg és nedves környezetben szaporodnak a leginkább ezek a penészgombák is. Tipikus példájuk az *Aspergillus* és a *Penicillium* fajok (pl. *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium verrucosum*). Ezek termelik az aflatoxinokat, ochratoxinokat, patulint és a citrinint (Pitt & Hocking 2009).

2.2. Mikotoxinok

A mikotoxinok a penészgombák káros hatású másodlagos anyagcsere-termékei. Lehetnek ösztrogén hatásúak, karcinogének, mutagének vagy teratogének. Komoly kockázatuk, hogy nem feltétlenül okoznak érzékszervi elváltozást, viszont minden esetben hátrányosan befolyásolják az élelmiszerek és élelmiszernyersanyagok minőségét az egészségkárosító hatásuk miatt.

A legjelentősebb mikotoxinok az aflatoxinok, ochratoxinok, Fusarium toxinok, anyarozs alkaloidok és a patulin. Több, mint 300 mikotoxint ismerünk és ezeknek legalább 1000 toxikus származéka ismert, amely számos különböző úton képződhet (1. ábra).



1. ábra. Mikotoxinok és származékaik

Az étrendi forrásainkba többféle úton kerülhetnek be. Gabonafélék, olajos magvak, aszalványok, fűszerek és a tejtermékek is szennyezettek lehetnek vele.

Több, mint 350 penészgomba faj termel toxint, például az *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* vagy az *Alternaria*. Szerencsére nem minden esetben termelődik toxin, amikor megjelennek ezek a penészek. Fontos a környezeti tényezők szerepe a toxinok

kialakulásakor. Ilyen elengedhetetlen tényező a megfelelő hőmérséklet vagy páratartalom is.

A mikotoxinoknak több közös tulajdonsága van. Általában kis molekulatömegű vegyületek, amelyeknek nincs antigén hatásuk. Nagyon ellenállóak. Hőstabil vegyületek, melyek ellenállóak még a gyomor sósavtartalmával szemben is. Agresszív sejtmérgek, de a legnagyobb problémát az okozza, hogy felhalmozódhatnak a szervezetben (májban, vesében), ezzel veszélyeztetve az egészséget. Súlyos velejárójuk, hogy mérgezéskor gátolják a szervezet specifikus védekező mechanizmusát.

Nem csak az emberekre károsak, de takarmányokba is bekerülhetnek, ezzel károsítva az állományt, illetve továbbjuthatnak az állati eredetű élelmiszerekbe (Peraica et al. 1999).

2.2.1. A mikotoxinok humán-egészségügyi jelentősége

A mikotoxinok a kémiai élelmiszerbiztonság szempontjából kiemelt fontosságúak mérgező hatásaik miatt. Súlyos szövődményekhez, daganatos megbetegedésekhez vezethet a jelenlétük a szervezetben, mivel hosszútávon felhalmozódhatnak.

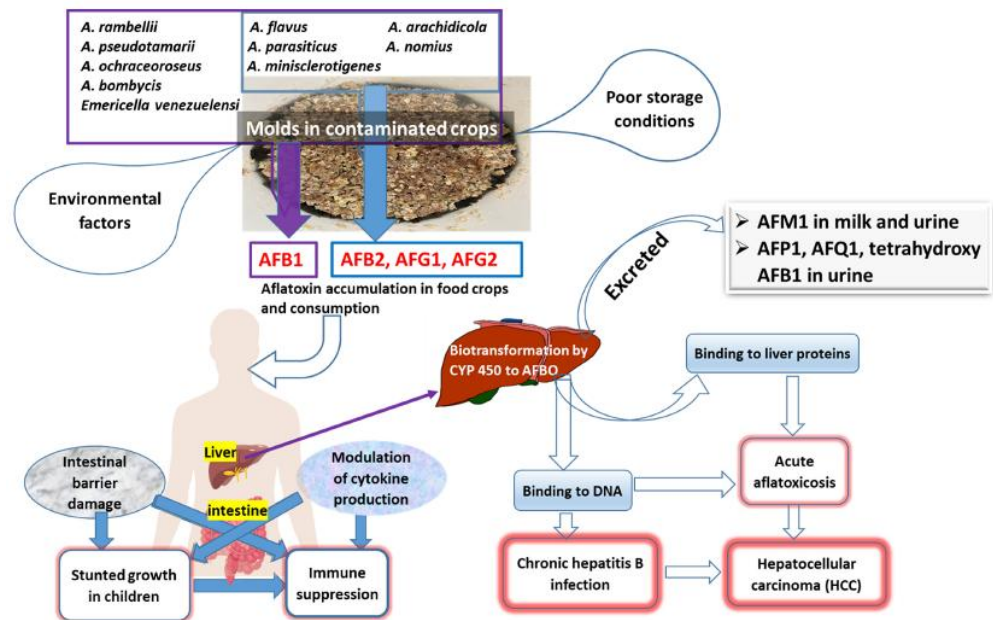
A vékonybélből szívódnak fel, vizelettel, széklettel lassan ürülnek ki a szervezetből. A tejben is megjelenhetnek, ezt koncentrációsnak hívjuk. (2. ábra)

Szinte minden szerv működésére hatással lehetnek. Egy mikotoxin hathat több szervre is (pl. ochratoxinok), valamint súlyos esetben felléphet szinergizmus is. Ilyenkor például az aflatoxin és a fusarium toxin együttesen nagyobb hatást fejt ki, mint külön-külön tennék. Hasonló eset lehetséges aflatoxin B1 és ochratoxin, valamint ochratoxin és citrinin együttes jelenlétekor is (Bennett & Klich, 2003.)

A leggyakoribb potenciális humán-egészségügyi hatásaik a következők:

- karcinogének (aflatoxinok, fumonizinek)
- immunszuppresszívek (ochratoxin, trichotecének)
- mutagének (aflatoxinok, zearalenon)
- teratogének (aflatoxin, ochratoxin)
- kardiotoxikusak (ergot alkaloidok, penicillinsav)
- dermatotoxikusak (trichotecének)
- emetikusak (DON, T-2 toxin)
- hemorrágiásak (patulin)
- hepatotoxikusak (aflatoxin, rubratoxin)
- nefrotoxikusak (citrinin, ochratoxin)

- neurotoxikus (ergot alkaloidok, fumonizinek, trichotecének), valamint
- ösztrogén hatásúak (zearalenon) lehetnek.



2. ábra: Az aflatoxinok metabolizációja (Abdallah et al., (2021))

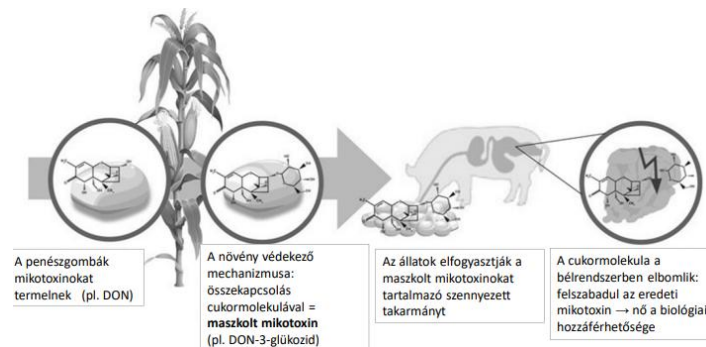
2.2.2. Állat-egészségügyi jelentőségük

A mikotoxinok állat-egészségügyi jelentősége ugyanannyira komoly, mint az emberek esetén. Mivel ezek a toxinok leginkább a gabonamagvak héjának felületén és a héj szöveteiben halmozódnak fel, ezért a szennyezett növényi takarmány könnyen megfertőzheti az állatokat is. Ezt hívjuk mikotoxikózisnak. Egyes mikotoxinok származékai az állatok szerveiben (úgyszintén főleg a vesében és a májban) valamint az izom-, és zsírszövetekben is felhalmozódhatnak.

A legnagyobb problémát az okozhatja, hogy változatlan formában vagy aktív módosulatként megjelenhetnek a tejben is (*aflatoxin M1*, *α -zearalenol*). Ez jelentős gazdasági károkat okozhat, mivel emiatt romlik az állati termék minősége és mennyisége és kevesebb lesz az értékesíthető termék. (Hussein S Hussein, Jeffrey M Brasel 2001).

A modern termelés egyik nagy kihívása, hogy léteznek úgynevezett módosult/-maszkolt mikotoxinok is. Ezek olyan mikotoxin származékok, melyek az ismert mikotoxinokra

alkalmazott hagyományos analitikai módszerekkel nem mutathatók ki, mert szerkezetük a növényekben megváltozott (3. ábra) (International Life Science Institute, 2011).



3. ábra A maszkolt mikotoxinok kialakulása

A „maszkolt mikotoxin” kifejezés nem alkalmas minden, megváltozott szerkezetű mikotoxin megnevezésére, mivel mindegyik kicsit eltérő. Egyesek kimutathatók rutin analitikai módszerekkel, míg mások jelenléte csak több kísérlettel igazolható.

A napjainkban folyó legújabb kísérletek célja a növények esetében ezek detoxifikálása.

Ezek az anyagok élelmiszerbiztonsági problémát jelentenek, mivel az expozíciójuk a becslés során figyelmen kívül marad, rutin szűrővizsgálatokkal jelenleg nem mutatják ki őket és nincs jogi szabályozás sem rájuk a felmerülésük esetén.

Az élelmiszerek és takarmányok mikotoxin szennyeződésének csökkentési lehetőségei több lépésből állnak. Elsődleges, hogy a meghatározott és megengedett határértékeket minden esetben be kell tartani az élelmiszerek/takarmányok ellenőrzésekor. Ki kell alakítani egy monitoring programot, hogy nyomon követhető legyen, mikor és hol volt szennyeződés, valamint *Jó Mezőgazdasági Gyakorlat*-ot (*GAP*) kell végezni. Megfelelő növényvédelem (fungicidek), növénynemesítés (alacsony kockázatú fajták) és növénytermesztés (nem toxinogén *Aspergillus flavus* törzsek) révén. De mindenképpen a megelőzés a legfontosabb!

2.3. Aflatoxinok

A toxintermelő *Aspergillus* fajok világszerte jelen vannak a talajban és a levegőben is, viszonylag széles hőmérsékleti intervallumban képesek szaporodni.

Az általuk termelt mikotoxinok felfedezése Angliában történt, az 1960-as években. Pulykák X-betegsége néven kerültek megismerésre. Angliában és más európai országokban több, mint 100 000 pulyka pusztult el ismeretlen okból. Ez a betegség májkárosodást, vérzést és májelégtelenséget okozott a fertőzött állatoknál. Nemcsak pulykákat érintett, hanem más állatokat, például kacsákat és fácánokat is. A kutatók hamarosan összefüggést találtak a beteg állatok földimogyorólisztből készült takarmányának elfogyasztása és a megbetegedés kialakulása között. Ez a földimogyoróliszt Brazíliából származott, és a tárolás során penészesedés lépett fel.

A megbetegedést okozó toxin első azonosítása 1961-62 között történt. Brit kutatók, köztük J. W. Sargeant és Arnold Stoloff, izolálták a felelős vegyületet a penészes földimogyoróból. A termelő kórokozónak az *Aspergillus flavus* penészgombát azonosították, ezért az általa termelt mérgező anyagot aflatoxinok neveztek el (az *A. flavus* toxin rövidítéséből). Később kiderült, hogy az aflatoxin B₁ rendkívül rákkeltő és főként a májsejteket károsítja.

További kutatások folytak az 1960-as években az aflatoxinokat érintően. Részletesen vizsgálták az USA-ban, Európában és más országokban is. Ezek során megállapították, hogy nemcsak állatokra, hanem emberekre is veszélyesek, és szennyezhetik a gabonaféléket, dióféléket, tejtermékeket és egyéb élelmiszereket.

Az 1970-es évektől kezdve szigorú élelmiszer-ellenőrzési szabályozások születtek az aflatoxinok okozta kockázatok ellen.

Ezek a toxinok optimálisan 28-30 °C között, nagy páratartalom (80-85%) mellett termelődhetnek. Az aflatoxinok nagyon hőstabilak, a főzésnek és a mikrohullámú kezelésnek ellenállnak. Az M1 toxin a pasztörözésnek is ellenáll. UV fény hatására azonban lebomlanak (Chandravarnan et al. 2025).

Főként szubtrópusi/trópusi országokban fordulnak elő, de a klímaváltozás hatására előfordulásuk kockázata már a mérsékeltébb égővi területeken is növekszik. Európában korábban raktári penészek fordultak csak elő, ma már azonban a szántóföldön is fertőznek. Legfontosabb aflatoxin típusok, jellemző termelő fajok és előfordulásuk:

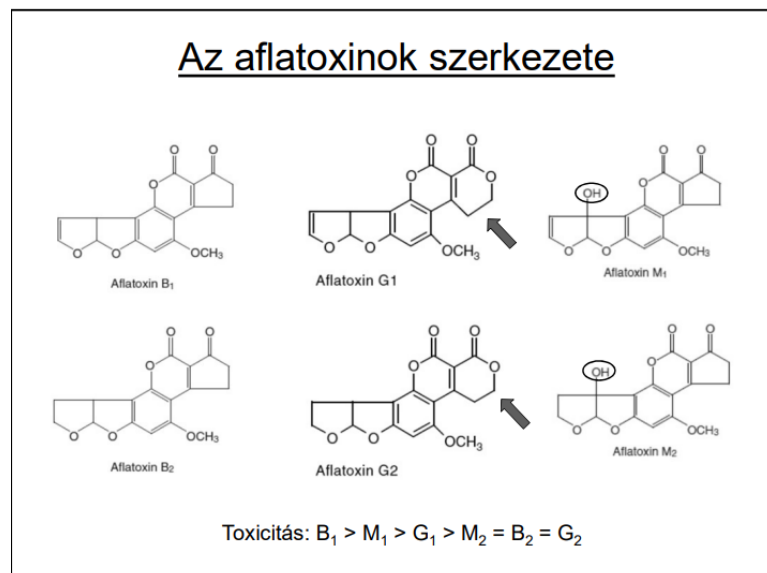
- aflatoxin B₁, B₂= *A. flavus* -- kukoricában, földimogyoróban, diófélékben

- aflatoxin B1, B2, G1, G2= *A. parasiticus* -- olajos magvakban, gabonafélékben

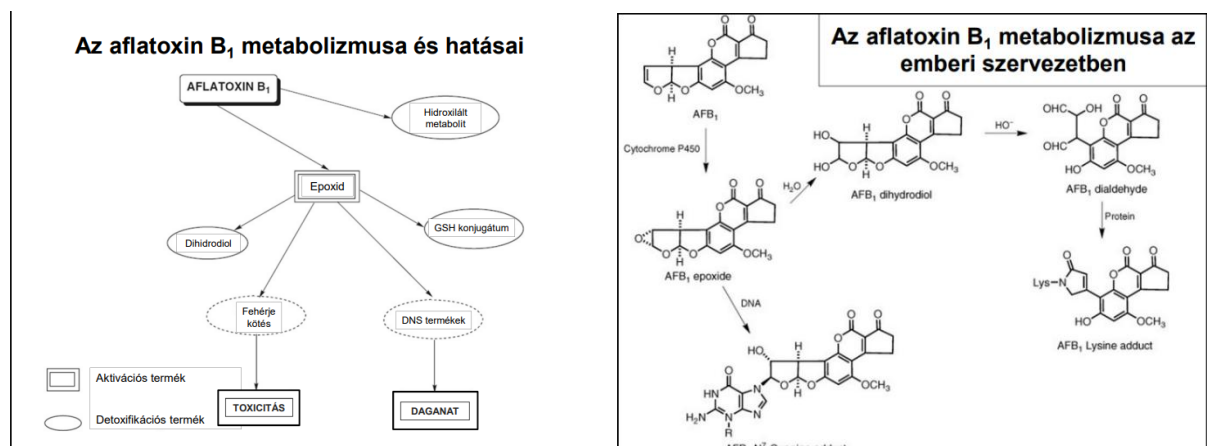
Ezek mellett van M1, M2-es aflatoxin is. Ezek a tejben fordulnak elő. Az M1 toxin a B1 aflatoxint tartalmazó takarmányból az állatokban végbemenő biotranszformáció által kerül a tejbe. Körülbelül 1-3% aflatoxin B1 (AFB1) választódik ki aflatoxin M1 (AFM1) formájában (Zentai et al. 2023).

2.3.1. Az aflatoxinok szerkezete és akut hatásai

Az aflatoxinok poliaromás mikotoxinok, szerkezetük hasonlít a kumarinhoz és a dihidrofuranhoz (4. ábra). Az AFB1 szerkezete tartalmaz egy kumarin gyűrűt és egy dihidrofuran gyűrűt, amelyek különböző kémiai kötések révén kapcsolódnak egymáshoz (Wei et al., 2018)



4. ábra: A különböző aflatoxinok szerkezete



5. ábra: aflatoxin B1 metabolizmusa

Az aflatoxinok erős mérgek, hatásuk akut, szubakut és krónikus formában is jelentkezhet. Ezek lehetnek máj-, vese- és tüdőkárosító hatások.

Tömeges humán mérgezések már több esetben is előfordultak (India → 1974; Kenya → 2004, 2005, 2006).

A leggyakrabban jelentkező tünetek: hányás, hasi fájdalom, vérzés, tüdőödéma, akut zsíros májelfajulás, görcsök, agyödéma, de azonnali halál is előfordult. Európában az akut hatásokat kiváltó dózis elfogyasztása igen ritkán fordul elő.

2.4. Az *Aspergillus flavus* és az általa termelt aflatoxin B1

Az *A. flavus* egy talajlakó, opportunistá penészgomba, amely meleg, párás környezetben gyorsan elszaporodik. Egy szaprofita talajgomba, amely a betakarítás előtti és utáni magterményeket fertőzi meg és szennyezi a rákkeltő másodlagos metabolitjával, az aflatoxinnal. A gomba egyben opportunistá állati és emberi kórokozó is, amely aspergillózis betegségeket okoz, amelyek előfordulása az immunhiányos populációban növekszik. Az *A. flavus* teljes genom szekvenciáját közzétették, amely 55 másodlagos metabolit klasztert tár fel, amelyeket különböző környezeti rendszerek és a globális másodlagos metabolit szabályozók, a LaeA és a VeA gének szabályoznak. Az egyik legígéretesebb stratégia a terepi védekezésben az *A. flavus* nem toxikus törzseinek felhasználása a kompetitív kizárási vizsgálatokban (Hedayati et al., 2007).

Az aflatoxin B1 (AFB1) a legtoxikusabb mikotoxin, amelyet főként az *Aspergillus flavus* és *Aspergillus parasiticus* termel. Erősen hepatokarcinogén, mutagén, és immunmoduláló hatású, különösen veszélyes az élelmiszerláncban (mogyoró, kukorica, füge, pisztácia stb.). Az AFB1 fő célpontja a máj, de a vesét, immunrendszert, idegrendszert és reproduktív szerveket is károsít. A májban az enzimatis lebontás során reaktív epoxid metabolit képződik (AFB1-8,9-epoxid), amely DNS-kötéseket hoz létre, mutációkat és daganatokat idézve elő. DNS-adduktokat képezhet: az AFB1-epoxid az N7-guaninhoz kötődik → G→T transzverzió, különösen a TP53 gén 249. kodonjában (májrák kialakulásához vezethet) (Hedayati et al., 2007.) (5. ábra).

A mikotoxinok közül a legszigorúbb határértékek az aflatoxinokra vonatkoznak. A tejben maximálisan 0,050 µg/kg aflatoxin M1 lehet. A csecsemő tápszerekben pedig még kevesebb (0,025 µg/kg). Egyéb termékekben, például a sajtokban, koncentrálódhat, ezért azokban a termékekben is egy alacsonyabb határérték van megszabva.

Az Európai Unió (EU) (1881/2006/EK és 2023/915/EK) rendelet alapján egyéb termékekre vonatkoztatott határértékeket az 1. táblázat mutatja be.

1. táblázat. *Élelmiszerekben előforduló egyes szennyező anyagok felső határértékei* Az EU-ban hatályos megengedett aflatoxin koncentráció egyes élelmiszerekben.

Termék neve	Aflatoxin B ₁ (µg/kg)	Összes aflatoxin (B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂) (µg/kg)	Aflatoxin M ₁ (µg/kg)
diófélék, olajos magvak (pl. földimogyoró) - közvetlen fogyasztásra	2 (µg/kg)	4 (µg/kg)	-
diófélék, olajos magvak – feldolgozásra	8 (µg/kg)	15 (µg/kg)	-
gabonafélék, rizs és szárított gyümölcsök	2 (µg/kg)	4 (µg/kg)	-
fűszerek	5 (µg/kg)	10 (µg/kg)	-

Az USA-ban ettől eltérő szabályozás van érvényben, különösen az aflatoxin B1 tekintetében. Az USA nem különíti el a B1-et az összes aflatoxintól a határértékek meghatározásakor, hanem összesített koncentrációt (Total Aflatoxins) figyel, így nincs is rá külön határérték. Az élelmiszerekben maximum 20 µg/kg lehet az összes aflatoxin mennyisége, míg a Codex Alimentariusban csak 15 µg/kg-ot írnak elő; csecsemőtápszerekben pedig maximum 0,5 µg/kg az aflatoxin M1 megengedett koncentrációja. A legfontosabb veszély az akut toxicitás, rákkeltő hatás (májdaganat),

amelyekre figyelni kell. Hepatitis B fertőzésen átesetteknél a fertőzés nagyobb kockázattal jár. Állati takarmányokban a megengedett határérték 20–300 µg/kg (állatfajtól függően).

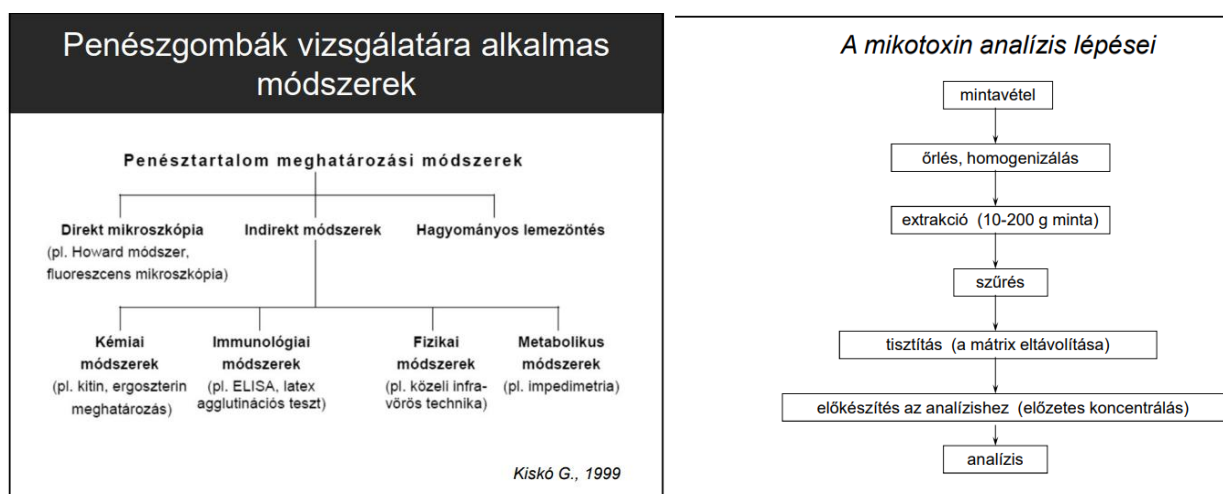
A Codex Alimentarius (FAO/WHO) általános nemzetközi ajánlásokat ad az aflatoxin okozta kockázatok csökkentésére, amelyeket sok ország alkalmaz. Öt fő ajánlást lehet kiemelni ezek közül:

- I. *Maximális határértékek (Maximum Levels, MLs) meghatározása:* A Codex meghatározza a megengedett legmagasabb aflatoxin-koncentrációkat különböző termékekben.
- II. *Mintavétel és elemzés:* A Codex Sampling Plans for Aflatoxins in Foods (CAC/RM 2-1995) meghatározza a mintavétel mennyiségét, homogenizálását és a laboratóriumi analitikai eljárásokat. Javasolt a HPLC vagy ELISA módszerek az aflatoxin B₁ pontos kimutatására.
- III. *Jó gyártási és tárolási gyakorlat (GMP/GHP) használata és betartása:*
A Codex Code of Practice for the Prevention and Reduction of Mycotoxin Contamination in Cereals (CAC/RCP 51-2003) előírja például a nedvességtartalom kontrollját vagy a gombaérzékeny növényfajták elkerülését.
- IV. *Nemzetközi kockázatértékelés (JECFA):*
A Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) kockázatelemzése alapján az aflatoxin B₁ genotoxikus és karcinogén, nincs biztonságos küszöbérték. Az expozíció minimalizálása minden esetben szükséges.
- V. *Kereskedelmi harmonizáció:*
A Codex ajánlásait az Európai Unió, az USA, Kanada és az afrikai országok többsége átveszi az élelmiszer- és takarmánybiztonsági szabályozásokban. Ez elősegíti a nemzetközi élelmiszer-kereskedelem egységesítését.

2.5. A penészgombák meghatározásának lehetőségei

Általánosan a penészgombák meghatározására használt módszereket tudunk alkalmazni, abból a célból, hogy meghatározzuk a mikotoxin-termelő fajokat, a szennyeződés forrását, valamint a gátló hatású mikroorganizmusok (pl. tejsavbaktériumok) hatékonyságát.

Ilyenek a hagyományos mikrobiológiai módszerek, az örökítőanyag kimutatása, a sejtösszetevő meghatározása (kitin, ergoszterin) vagy az anyagcseretermékek detektálása. A módszer kiválasztása függ a célzott érzékenységtől, a vizsgált mátrix összetettségétől és a laboratóriumi lehetőségektől (6. ábra) (Turner et al., 2009).



6. ábra: Penészgombák kimutatására alkalmas módszerek

Az aflatoxin meghatározására is többféle módszert alkalmazhatunk.

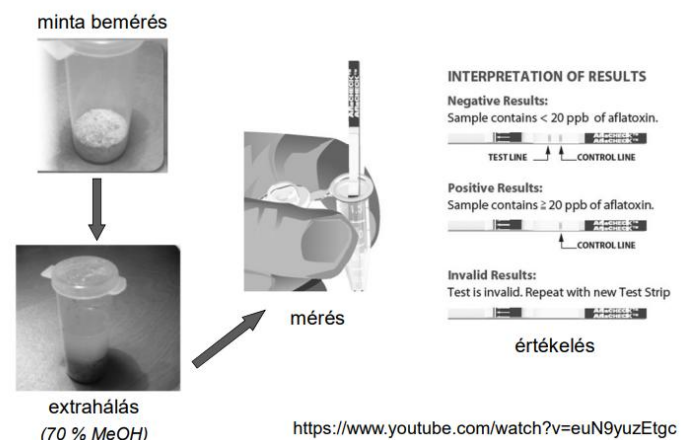
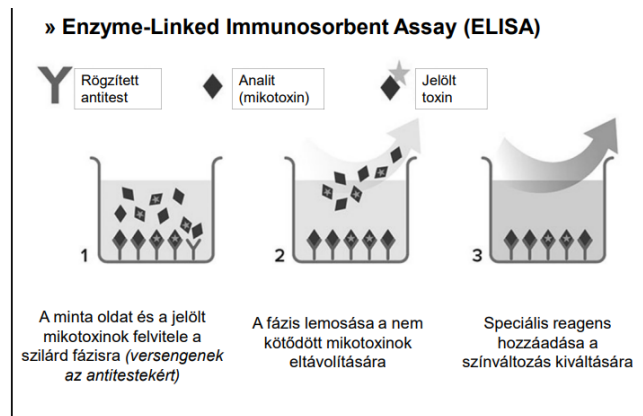
1. Léteznek hordozható és gyors tesztek az aflatoxinok egyszerű kimutatáshoz.

Lehet speciális előre elkészített csomagokat, - kitéket vásárolni.

- Ezeket a módszereket főként terepi vizsgálatokhoz vagy gyors szűréshez alkalmazzák *Lateral flow teszt (gyorstesztcsíkok)*: Gyors, de kevésbé pontos szűrésre alkalmasak például gabonafélék és takarmányok vizsgálatára.

2. Laboratóriumi körülmények között a leggyakrabban használt módszerek az immunológiai módszerek.

Ilyen például az *ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)*: Enzimmel jelölt antitesteket alkalmazó immunológiai módszer, amely gyors és érzékeny (7. ábra)



7. ábra: ELISA módszer és az AflaCheck/DONCheck gyorseszteszt mérések menete

3. A kromatográfias módszerekkel való toxin kimutatás a másik nagy csoport:

Ezek nagyobb pontosságot és érzékenységet biztosítanak, mint a gyorsesztesztek.

- Ilyen a **HPLC** (Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia) (8. ábra).

Ez a módszer *fluoreszcens* vagy *tömegspektrometriás (MS)* detektálással rendkívül pontos eredményt ad. Jól alkalmazható élelmiszer- és takarmányminták analízisére. Laboratóriumi körülmények között kimutatható több toxin is a segítségével az alapvető aflatoxin variánsokon kívül (Aflatoxin B₁, B₂; G₁; G₂; illetve az aflatoxin M₁ és M₂ (AFM₁; AFM₂)). A fluoreszcens detektálással végzett kimutatás meghatározási határa (limit of quantification, LOQ) 0,05 ppb. Az M₁ és M₂ aflatoxinok gyenge fluoreszcenciája miatt derivatizálás szükséges (pl. bromálás).



8. ábra: Kromatográfias detektálás – HPLC

- **LC-MS/MS** (Folyadékkromatográfia-tömegspektrometria). Ez egy nagyon érzékeny módszer, amely lehetővé teszi az aflatoxinok pontos azonosítását és mennyiségi meghatározását. A módszer igen szelektív és a meghatározási határa (limit of quantification, LOQ) 0,1 ppb. Hátránya, hogy drága a műszerigény és mivel elég komplex a módszer, haladó szintű adatelemzési készségeket igényel a pontos vizsgálat és meghatározás (Stroka et al., 2016).
- A **GC-MS** (Gázkromatográfia-tömegspektrometria) képes egyedi fragmentációs mintázatokkal azonosítani az aflatoxinokat.

2. Egyéb módszerek

- **Fluoreszcens spektroszkópia:**

Az aflatoxinok természetes fluoreszcenciáját kihasználva bizonyos mintákban gyorsan kimutathatóak. Például az Aflatoxin B₁ (AFB₁) – kék fluoreszcencia segítségével (exc. 365 nm, emisszió: ~425 nm).

Vannak természetesen *nem fluoreszkáló vagy gyengén fluoreszkáló aflatoxinok*. Ilyenek az aflatoxin M₁ (AFM₁) és M₂ (AFM₂). Bár ezek is fluoreszkálhatnak, általában gyengébb intenzitású fluoreszcenciával rendelkeznek, így kimutatásukhoz gyakran szükség van fluoreszcenciát erősítő reagensekre (pl. brominnal vagy származékképzéssel végzett kezelésre).

- **HPTLC** (Nagy teljesítményű vékonyréteg-kromatográfia): Olcsóbb, de kevésbé érzékeny módszer. Gyakran kombinálják az előbb említett fluoreszcens technikával.

2.6. Mikotoxinmentesítési módszerek

A mikotoxinok káros hatásainak csökkentésére többféle módszert is kifejlesztettek, viszonylag nagy hatékonysággal. Ezek lehetnek kémiai, fizikai és biológiai módszerek is.

A főbb fizikai módszerek a hőkezelés, a besugárzás és az adszorpció. A kémiai módszerek közé tartozik a lúgosítás, ózonos kezelés, peroxidáció, míg a biológiai módszerek közé az enzimes lebontás és a mikrobiológiai detoxifikáció sorolható. Továbbá olyan módszereket is kutatnak, mint a hideg plazma, a pulzáló fény, nagy nyomású technológiai és a fotokatalízis (He és Zhou, 2010, Urugo et al., 2023)

A fizikai módszerek viszonylag egyszerűek és gyorsak, de hátrányai közé sorolható, hogy nem teljes mértékű a detoxifikáció és jelentős (többnyire negatív) változásokat idézhet elő az élelmiszerek tulajdonságaiban, minőségében.

A kémiai detoxifikáció során bizonyos vegyületeket, például antioxidánsokat, vagy ammóniát alkalmaznak a mikotoxinok hatásának semlegesítésére vagy csökkentésére, melynek előnye a jó hatásfok, azonban visszamaradhatnak az alkalmazott vegyületek az élelmiszerben, befolyásolva annak biztonságát és fogyaszthatóságát. Ugyanakkor az antioxidánsok képesek a mikotoxinok oxidatív hatásait csökkenteni, miközben védik az élelmiszerek tápértékét és biztonságát. A biológiai módszerek közül az enzimatisz módszerek során például epoxidázokat, lakkázokat és peroxidázokat alkalmaznak a mikotoxinok szerkezetének megváltoztatására, így csökkentve azok toxikus hatását. Az enzimek képesek specifikus reakciókat katalizálni, amelyek során a mikotoxinok ártalmatlan vegyületekké alakulnak. Ez egy nagyon specifikus és hatékony, valamint környezetbarát módszer, azonban jelentősen érzékenyebb a környezeti hatásokra, mint a fizikai vagy kémiai módszerek. A biológiai detoxifikáció másik módja, amikor mikroorganizmusokat, például baktériumokat, élesztőket és penészgombákat alkalmaznak a mikotoxinok lebontására vagy eltávolítására. Ezek a mikroorganizmusok képesek a mikotoxinokat ártalmatlan vegyületekké alakítani. Az ilyen mikroorganizmusok alkalmazása ígéretes megoldás lehet a mikotoxinok eltávolítására az élelmiszerekből és takarmányokból, mivel előnyük a specifikusság, a nagy hatékonyság és optimális körülmények között az élelmiszer tápanyagaiban sem történik jelentős változás és biztonságosak is. (El-Nezami et al., 1998, Shetty és Jespersen, 2006, Ntungwe et al., 2024)

2.7. Tejsavbaktériumok

A tejsavbaktériumok (**Lactic Acid Bacteria, LAB**) olyan mikroorganizmusok csoportját alkotják, amelyek cukrokat bontanak le tejsavvá (fermentációs folyamat révén). Ezek a baktériumok elsősorban élelmiszeripari, egészségügyi és biotechnológiai szempontból fontosak.

A tejsavbaktériumok általánosan a következőképpen jellemezhetők. Gram-pozitívak és pálcika vagy kokkusz (gömb) alakúak. Anaerob vagy mikroaerofil környezetben szaporodnak hatékonyan, tejsav-termelésük révén pedig savas közeget hoznak létre, amely gátolja a kórokozó baktériumok szaporodását.

Főbb nemzetségeik a *Lactobacillus*, ez a leggyakoribb és legismertebb csoport, sok probiotikus törzset tartalmaz; a *Lactococcus*, ezek főként a tejiparban fontosak, például sajt- és joghurtkészítés során; a *Streptococcusok* melyek különböző fajai megtalálhatók az emberi bélflórában és tejtermékekben; valamint a *Leuconostocok* és a *Pediococcusok*, amelyek főként zöldségfermentációban és kovászos kenyér készítésében használatosak.

A tejsavbaktériumoknak fontos szerepük van az élelmiszeriparban tartósítás és penészgátló aktivitásuk miatt (Veras et al., 2016).

- Tejtermékekben
 - Joghurtokban a *Lactobacillus bulgaricus* és a *Streptococcus thermophilus* fajok biztosítják a jellegzetes állagot és savanykás ízt.
 - A sajtok esetében az érlelési folyamat során bontják a tejfehérjéket, kialakítva a sajt jellegzetes ízét.
 - A kefirnél a *Lactobacillus* és más baktériumtörzsek mellett élesztőgombákat is felhasználnak.
 - Erjesztett zöldségek ipari előállításához is használják őket. Például a kovászos uborkához a természetesen előforduló *Leuconostoc* és *Lactobacillus* fajokat, melyek a fermentációt indítják el, illetve a savanyú káposztához a *Lactobacillus plantarumot* használják, mely dominál az erjedés során (Paramithiotis 2025).
 - A húsiparban szalámik és egyéb fermentált húskészítmények érlelésében is részt vesznek.
- A sütőiparban is mindennapi résztvevők, hiszen a kovászos kenyér készítésekor a fermentáció során tejsav keletkezik, amely javítja a kenyér állagát és ízét.

A tejsavbaktériumok jelentős penészgátló hatással rendelkeznek. Egyrészt szerves savakat termelnek és a savas környezet megakadályozza a gombaspórák csírázását és növekedését. A nem disszociált szerves savak behatolnak a gombák sejtjeibe, ahol a belső pH megváltozásával sejthalált idéznek elő. Ezzel meg lehet gátolni bizonyos penészeket, például az *Aspergillus flavus* (aflatoxin-termelő); *Penicillium expansum* és *Fusarium* fajokat.

Például a *Lactobacillus plantarum* által termelt ferulasav és hidroxifenil-ecetsav hatékonyan gátolja a *Penicillium* és *Fusarium* fajok növekedését (Simões et al., 2023).

Másrészt a tejsavbaktériumok antimikrobiális peptideket és fehérjéket is termelnek, amelyek közvetlenül gátolják a penészgombák növekedését. (*Plantaricin* (*Lactobacillus plantarum*); *Reuterin* (*Lactobacillus reuteri*); *Lactococcin* (*Lactococcus spp.*) Ezek a sejthártya károsításával gátolják a penészgombák növekedését. A fehérjeszintézis vagy sejtfalépítés megzavarásával megakadályozzák a micélium kialakulását. Érintett fajok erre például a *Fusarium graminearum*; *Aspergillus niger*; *Alternaria alternata* (Mihaylova-Garnizova et al., 2024).

A tejsavbaktériumok termelhetnek hidrogén-peroxidot (H_2O_2) is, amely oxidatív károsodást okoz a penészgombák sejtjeiben. A hidrogén-peroxid reaktív oxigén gyököket (ROS) hoz létre, amelyek károsítják a gombák fehérjéit és DNS-ét. Ez oxidációs stresszt idéz elő a gombák sejtjeiben, ami sejthalálhoz vezet. Erre érzékenyek az *Aspergillus ochraceus* és *Cladosporium* fajok, de szélesebb körben a *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium* és *Alternaria* több faja is (Divyashree et al. 2023).

Egyes *Lactobacillus* és *Pediococcus* törzsek fenolos vegyületeket és antifungális metabolitokat állítanak elő, amelyek közvetlenül gátolják a penészgombák növekedését. Nemcsak megzavarják, hanem fokozatosan megbontják a penészgombák membránjának funkcionális integritását. Ez fokozott áteresztőképességhez, ionszivárgáshoz és savas stresszhez vezet, amely végül sejtfal-szintézis gátlást és sejthalált eredményez. A tejsavbaktériumok több gombanemzetségre és fajra is hatással vannak (például a *Fusarium* és a *Rhizopus stolonifer* fajokra). A gátló anyagok pedig a következők lehetnek: Fenolos savak (pl. ferulasav, kávésav); Reuterin (*Lactobacillus reuteri* által termelt aldehid); Diazociklopropán vegyületek (pl. ciklopropán zsírsavak) (Karunaratne et al., 1990, Zapašnik et al., 2022).

Ezeknek a baktériumoknak vannak általános antimikrobiális hatásaik is, de ezek nagyban megegyeznek a penészgátló hatásaikkal. Antimikrobiális tulajdonságokkal rendelkeznek, amelyek révén gátolják a kórokozó és romlást okozó mikroorganizmusok növekedését is. Ezek a tulajdonságok a fermentáció során fontosak és a keletkező anyagoknak köszönhető, hogy javul az élelmiszerek eltarthatósága.

3. Felhasznált anyagok és alkalmazott módszerek

3.1. Penész és probiotikus tejsavbaktériumok

Aspergillus flavus ZT 41 (igazoltan aflatoxintermelő törzs)

BEBA teljes izolátum (*Bifidobacterium lactis* baktérium törzset tartalmaz a termék leírása szerint).

BEBA-ból izolált ismeretlen baktérium

Lacticaseibacillus rhamnosus GG

Lacticaseibacillus casei Shirota (LcS)

Limosilactobacillus reuteri DSM 17938

Lacticaseibacillus casei 01 (CAS 01)

Lactobacillus acidophilus LA-5

Felhasznált táptalajok; oldatok:

BRBC (Diklór Rózsabengál Kloramfenikol)	1 literhez – 40 g DRBC por
MRS (de Man, Rogosa és Sharpe agar)	1 literhez – 55 g MRS agar por
maláta agar	1 literhez – 30 g maláta kivonat + 5 g proteose pepton + 15 g Agar No. 2 agar
maláta lágyagar	1 literhez – 30 g maláta kivonat + 5 g pepton + 7,5 g agar
MRS-maláta kivonat kevert agar	1 literhez – 27,5 g MRS tápleves por + 15 g maláta + 2,5 g pepton + 15 g agar
MRS-maláta kivonat kevert tápleves	1 literhez – 27,5 g MRS tápleves por + 15 g maláta + 2,5 g pepton
Tween 80 lemosó oldat	250 ml Tween 80-as (0,05%) lemosóoldathoz - 0,125 µl Tween 80, felöntöttünk 250 ml desztillált vízzel
Fiziológiás sóoldat	1 literhez 8,5 g NaCl + 1 g pepton + 1000 ml desztillált víz
Spóraszuszpenzió	10 ⁶ spóra/ml spóraszuszpenzió

Az agarokat, tápleveseket és oldatokat felhasználás előtt autoklávban 121 °C-on, 15 percig autoklávoztuk.

3.2. Módszerek

3.2.1. *Gátlási vizsgálat – kétrétegű agar módszer*

Az első kísérlet célja az volt, hogy lássuk a különböző baktériumok mennyire gátolják a penészgombánk növekedését.

Ehhez készítettünk MRS agart és maláta kivonat lágyagart. Minden mintához 3 párhuzamos Petri csészében dolgoztunk.

A gátlási vizsgálat előtt átoltottuk a baktériumokat, a BEBA-ból 3 tagú hígítási sort készítettünk. Ebből sikerült izolálnunk egy egysejt tenyészetből egy baktériumot, amit izolált baktériumnak neveztünk a kísérletek folyamán. Valamint a BEBA gyerektápszer kevert tenyészetét is bevontuk a vizsgálatba.

MRS agart öntöttünk Petri-csészékbe és hagytuk megszilárdulni. Ez biztosította a tejsavbaktériumok növekedéséhez szükséges tápanyagot. A vizsgált baktérium törzsekből ezt követően steril oltókaccsal csíkot húztunk a tápagar felszínére. 48 órán keresztül inkubáltuk 37°C-on, hogy kinőljenek a tejsavbaktérium telepek.

Az inkubálást követően 400 ml maláta lágyagart készítettünk, amihez a $6,25 \cdot 10^3$ -os spóraszuszpenziókból adtunk 2,5 ml-t és jól homogenizáltuk. Szétoszlattunk 20 ml agart az MRS-sel teli petricsészék tetején, majd 3 napon át inkubáltuk őket 37°C-on. A kihúzott tejsavbaktérium-csík körül kialakuló feltisztulási zóna alapján értékeltük a penész-gátlás mértékét.

3.2.2. *Spóraszámlálás*

Ahhoz, hogy megtudjuk mennyi spóránk képződött a kinőtt penész-telepeinken, spóraszámlálást kell végeznünk mindegyik mintán. Ehhez a telepeink közepét centrifugacsővel és mintavevő kanállal kivájtuk oly módon, hogy mindegyik mintából azonos felületű agar ($5,72 \text{ cm}^2$) került a centrifugacsövekbe. A cső száját finom mozdulattal belenyomtuk a telep közepére és enyhe körkörös mozdulattal kivágtuk, majd egy alkohollal lefertőtlenített mintavevő kanállal behelyeztük a csőbe. A cső száját is lefertőtlenítettük és papírtörlővel letöröltük. Készítettünk Tween 80 lemosó oldatot és 10 ml-rel felöntöttük a kivájt mintákat, majd összeráztuk őket, hogy lemossuk a spórákat a penészgombák felületéről.

Ezután Bürker kamrába 10 μl -t pipettáztunk és mikroszkóp alatt megszámloltuk a spórákat. Amint megvolt az összesített spóraszámunk, elosztottuk a számoláshoz

használt alakzat (nagy négyzetek) számával és megszoroztuk a szorzófaktorával ($2,5 * 10^5$). A törzs-spóraszuszpenzióknk esetén is ez alapján határoztuk meg a spóraszámot, amely $7,3*10^6$ -spóra/ml koncentrációjú lett. Ezt alkalmaztuk a további kísérletekhez.

3.2.3. *Penészgomba növekedésének gátlása cseppentéses módszerrel*

Ehhez a kísérlethez MRS-maláta kevert agart használtunk. Az agar megszilárdulása után rácseppentettünk a lemez közepére 10 µl-t a tejsavbaktériumainkból, majd a csepp beszáradását követően 10 µl spóraszuszpenziót ($7,3 * 10^6$ spóra) is cseppentettünk ugyanarra a helyre. Ezután ezt is hagytuk beszáradni, majd bekerültek a 37°C-os inkubátorba. 5 napos inkubációt követően a penésztelep növekedésének mértékéből értékeltük a tejsavbaktériumok gátló aktivitását.

3.2.4. *Tejsavbaktériumok és spóraszám koncentrációjának hatása a penésznövekedés gátlására*

Nem csak azt fontos megállapítanunk, ha toxintermelő penészgombákat akarunk gátolni, hogy mi lehet potenciálisan egy gátló faj vagy törzs, hanem azt is, hogy mekkora koncentráció kell a gátlás eléréséhez. Kevert agart készítettünk ehhez a kísérlethez is. A korábbi kísérletünkben (fejezet sorszáma) sejtszámunk 10^9 baktérium/ml volt, ami gátolta a 10^5 milliliterenkénti spóraszámot, azaz 9:5-höz volt a koncentrációnk aránya. Ugyanezt a koncentrációt beállítottuk megint kontrollként és beállítottunk három másik koncentrációt ezenkívül. Ezek az arányok a következők voltak: 8:5; 8:4 és 6:5-höz. A bemért szuszpenzióink pedig a következők lettek

Baktérium sejtszám/ml	Spóra sejtszám/ml	Arány
10^9	10^5	9:5
10^8	10^5	8:5
10^8	10^4	8:4
10^6	10^5	6:5

Miután ezekkel a koncentrációkkal elvégeztük a cseppentést, betettük őket inkubálni 37 °C-ra, majd 7 nap után értékeltük ki a mintákat.

A gátlások megállapítása után azt kaptuk, hogy a 8:5 arányú minták még közel hasonlóan gátolnak, mintha 9:5-ös arányt használnánk, ezért erre a koncentrációra is elvégeztük az átmérőváltósos nyomonkövető kísérletet.

3.2.5. *Az telepek átmérőváltósásának nyomon követése – kinetikai vizsgálatok*

Ahhoz, hogy megállapítsuk milyen sebességgel és lefolyással gátoltak a baktériumok a korábban megállapított koncentrációban (8:5), szükséges volt elvégeznünk egy több napon át tartó kinetikai kísérletet, amely során folyamatosan figyeltük, mennyire változnak meg az agaron kinőtt telepeink átmérői, és ezáltal teljes mérete.

Ehhez a kísérlethez MRS-maláta kevert agart használtunk. Baktérium lemezöntést végeztünk, azaz 1 ml-t a tejsavbaktériumaink 10-szeres hígításából elkevertünk az előkészített agarainkban, majd az agar megszilárdulása után rácseppentettünk 10 µl spóraszuszpenziót ($7,3 \cdot 10^5$ spóra) is. Ezután ezt is hagytuk beszáradni, majd bekerültek a 37°C-os inkubátorba.

A telepek méretének növekedését 5 napon át nyomon követtük, úgy hogy minden nap bejelöltük a telepek 2-2 szélét és vonalzóval lemértük, hány mm-re változott az előző naphoz képest a telep mérete. Ezeket az értékeket egy táblázatba leírtuk, majd átlagoltuk és szórást számoltunk belőlük.

3.2.6. *Spóráképződés vizsgálata*

Ahhoz, hogy megállapítsuk, hogy 5 nap elteltével mennyi spóra keletkezett, kivágtuk a telepek közepét a 3.2.2. pontban leírtak szerint és 10 ml Tween 80 oldatban összeráztuk 1 percen át, hogy lemosódjanak a spórák és meg tudjuk őket számlálni szintén a 3.2.2. pontban leírtak szerint.

3.2.7. *Sarjadzás vizsgálat*

A sarjadzáshoz alkalmazott vizsgálati módszert Wang (2008), Gemeda és munkatársai (2014) által leírtak alapján végeztük. A korábban szuszpendált 10^7 spóraszuszpenzióból 900 µl-tösszekevertünk 100 µl 10^9 sejt/ml koncentrációjú baktériummal és 9 ml vegyes MRS-MEA táplevesbe pipettáztuk a mintákat (a végső koncentráció 10^6 spóra, 10^8 baktérium), majd 37 °C-on inkubáltuk. Mind a 7 darab mintánkból készítettünk 10 µl -nyi szuszpenziót és egy Bürker-kamrában egy digitális kamerával felszerelt

fénymikroszkóppal leszámoltuk a 0. napon a jelenlévő sarjadzó spórákat (amelyek hosszúkásak, már nem gömb alakúak, vagy már kinőtt hifák vannak jelen), majd 24, 48 és 72 óra múltán is.

3.2.8. Gátlás kenyéren

Mivel az aflatoxin többféle élelmiszeren is meg tud jelenni, úgy gondoltuk, hogy megnézzük az egyik legalapvetőbbben, a kenyéren. Ehhez a kísérlethez egy búzaalapú szeletelt kenyeret használtunk (SPAR vidéki cipó – Nagy szeletelt világos kenyér).

A kenyérszeleteket apró darabokra szaggattuk és beletettük petricsészékbe (nagyjából 5 g-ot). A 8:5-enes baktérium – spóra koncentrációjú szuszpenziókat használtuk. 2-2 ml baktériumot szuszpenziót feltöltöttünk 14 ml-re és 10 percen keresztül 10000 rpm-en centrifugáltuk őket. Ezután leöntöttük a felülúszót és vízzel feltöltöttük 20 ml-re. A penész esetében 9,9 ml vízhez adtunk 100 µl spórát. Először minden petricsészényi kenyérdarabkán szétoszlattunk 1 ml steril vizet, 1 ml baktériumot, majd 1 ml spórát, aztán eltettük őket inkubálni 37 °C-ra. A vizsgálat során kétnaponta megnedvesítettük a kenyérmintákat 1-1 ml vízzel, hogy megfelelő körülmények legyenek a penészek növekedéséhez.

Penész-szám meghatározása kenyérmintákon

6 napos inkubációt követően 50 ml-s centrifugacsövekbe táramérlegesen kimértünk körülbelül 1 g kenyérmintákat, majd felöntöttük őket 10 ml Tween 80 lemosóoldattal. A mintákból egy 2 tagú hígítási sort csinálunk, a kontrollból pedig egy 5 tagút, úgy, hogy a hígításaink nulladik tagja a hígítatlan szuszpenzió. A baktériumos kezelt minták hígításaiból minden tagot szélesztettük, a kontroll esetében viszont csak a 3., 4. és 5. tagot. A szélesztéshez szélesztőpálcát használtunk és a DRBC agarra 100 µl-t pipettáztunk. A mintákat 37°C-on inkubáltuk, majd megszámloltuk a kinőtt telepeket.

Spóraszám meghatározása kenyérmintákon

Meghatározzuk az eredeti spóraszuszpenzióból Bürker-kamrával mikroszkóp alatt a spóraszámokat is. Ahhoz hogy megkapjuk 1 g kenyéren mennyi spóra van, a következő képletet használtuk:

$$\frac{\left(\frac{\text{Összes spóraszám}}{\text{Alakzatok száma}} * \text{alakzat szorzófaktora} * 10(\text{hígítási faktor})\right)}{\text{Minta tömege} - g}$$

3.2.9. Statisztikai kiértékelés

A kontroll, illetve probiotikus baktériumokat is tartalmazó minták közötti esetleges eltérés jelentőségének meghatározásához egyutas ANOVA módszert, illetve azt követően Tukey post hoc tesztet alkalmaztam 95%-os konfidencia intervallum beállítása mellett. A statisztikai próbákat Minitab® 15.1.30.0. programmal (Minitab, Chicago, IL, USA) végeztem.

3.2.10. Az Aflatoxin B1 meghatározása RP-HPLC módszerrel

Mintaelőkészítés:

A mikotoxin extrakciójához a vizsgált mintát 10 ml metanol: víz (80:20) eleggyel rázatjuk 20 percig, majd 1,5 g magnézium-szulfátot és 0,5 g nátrium-kloridot adunk hozzá, amellyel további 5 percig kevertetjük elősegítve az aflatoxin szerves fázisba kerülését. Ezt követően a mintát centrifugáljuk (6000 RPM, 10 perc), majd a szerves fázisból 1 ml-t leszűrünk (0,45 µm), amiből 50 µl-t injektálunk a HPLC oszlopra.

Kromatográfiás meghatározás: HPLC rendszerrel

A mérés paraméterei:

Készülék: Thermo Vanquish HPLC

Oszlop: Kinetex 2,6 µm XB-C18 100A, 100 x 3 mm

Elúció: gradiens

Mobil fázis A: 5 mM ammónium-acetát /víz és 0,5% ecetsav

Mobil fázis B: 5 mM ammónium-acetát /metanol és 0,5% ecetsav

Detektálás: Ex hullámhossz: 333 nm, Em hullámhossz: 450 nm

Gradiens elúciós program beállításai

Time	Flow (ml/min)	%A	%B
0.0	0.45	98.0	2.0
1.0	0.45	98.0	2.0
5.0	0.45	20.0	80.0
5.4	0.45	2.0	98.0
10.0	0.45	2.0	98.0
11.0	0.45	98.0	2.0
15.0	0.45	98.0	2.0

4. Eredmények és értékelés

4.1. Kétrétegű agar módszerrel végzett gátlási kísérlet eredményei

Az első vizsgálatunkban arra voltunk kíváncsiak, hogy a klasszikus, általánosan használt gátlási vizsgálati módszer alapján mely tejsavbaktériumok gátolják az aflatoxin-termelő penész növekedését.

Amint az a gátlási eredmények táblázatból (2. táblázat) és a csatolt képeken látható, a feltisztulási zóna alapján mindkét párhuzamos esetén csak a reuteri törzs gátolta a penész növekedését. (9-15. ábra)

2. táblázat. A probiotikus baktériumok penész.növekedés gátlási eredményei

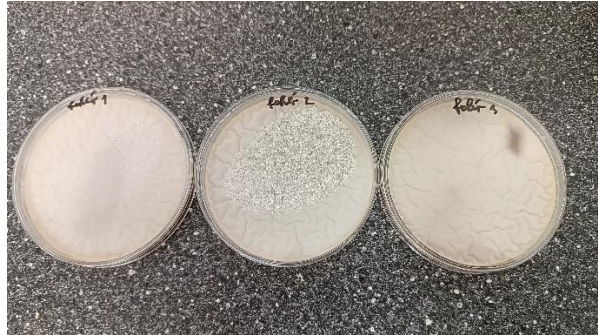
Probiotikus baktériumok	A gátlás eredménye
Kontroll	- -
Reuteri	+ +
Shirota	- +
LA - 5	+ -
Cas 01	+ -
GG	+ -
BEBA	- +
BEBA-ból izolált mikroba	- -

+ : gátolt a tejsavbaktérium

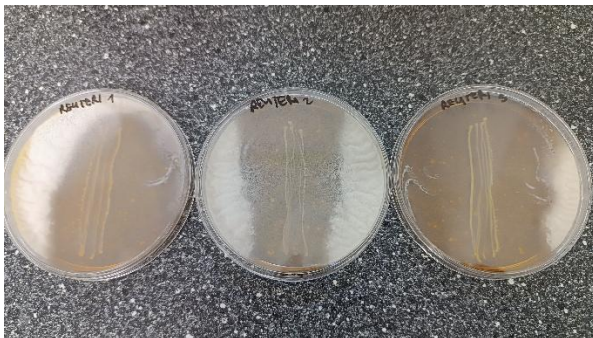
+ - : részlegesen gátolt a tejsavbaktérium

- : nem gátolt a tejsavbaktérium

9. Kontroll/fehér izolált mikroba



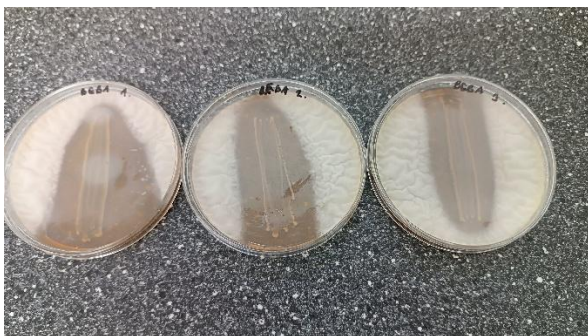
10. Reuteri



11. Shirota



12. BEBA



13. Casei 01



14. GG



15. LA-5

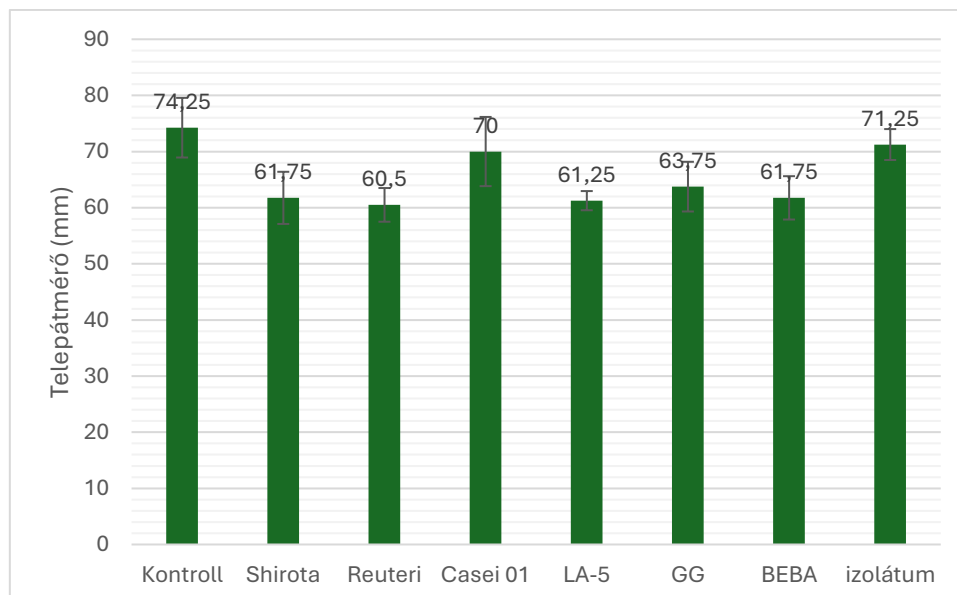


9-15. ábra Kétrétegű agar módszerrel végzett gátlási kísérlet eredményei

4.2. Penészgomba növekedésének változása cseppentéses vizsgálat alapján

Kísérletünkben arra voltunk kíváncsiak, hogy azonos időben, egy helyre juttatott probiotikus baktérium szuszpenzió és penész spóra szuszpenzió esetén, mekkora mértékben gátolják a baktériumok a penész növekedését.

A kísérletünk alapján látható (16. ábra), hogy a baktériumok gátlása közel azonos mértékű. A kontroll penész-telep átmérőhöz (71,25 mm) képest 13,75-10,5 mm-rel kisebb telepnövekedést mértünk. Ez alól kivétel a casei 01 és az izolált baktérium, ahol csak 3-4,25 mm gátlást mértünk, Ebben az esetben is a reuteri gátolt a legjobban (13,75 mm), de a *Shirota*, az *La-5* és a *BEBA* is elég jól gátoltak (12,5 mm; 13 mm; 12,5 mm). A *GG* kicsivel kisebb gátlást mutatott, mint az előzőek (10,5 mm). Ez a kísérlet hasonló eredményt mutatott két korábbi vizsgálattal is, ahol szintén a telepnövekedés gátlását vizsgálták *Aspergillus flavus* és *Aspergillus carbonarius* törzsekkel. Hasonló módszerrel és hasonló végeredményt kaptak, de más *Lactobacillus* törzsek felhasználásával. Taheur és munkatársai 4 féle tejsavbaktérium törzset használt, amelyből a legjobb a *Lactobacillus kefir* FR7 lett. Nguyen és társai pedig 19 féle törzset izoláltak fermentált kakaóbabból, melyekkel az *Aspergillus flavus* UBOCC-A-10866 törzset gátolták. A legjelentősebb baktériumok a következők voltak: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Levilactobacillus brevis*, *Lactocaseibacillus paracasei*. (Taheur et al., 2019; Nguyen et al., 2025).



16. ábra Penészgomba növekedésének változása cseppentéses vizsgálat alapján

Mivel ebben az esetben 10^9 sejt/ml sejtszuszpenziót és 10^5 spóra/ml spóraszuszpenziót alkalmaztunk, következő kísérletünkben arra kerestük a választ, hogy hogyan befolyásolja a baktériumok és penészspórák koncentrációja a gátlás mértékét.

4.3. Gátlás vizsgálat különböző koncentrációk esetén

3. táblázat. A probiotikus baktériumaink gátlási eredményei különböző koncentrációkon

Vizsgált baktériumaink	Különböző baktérium- és spóra sejtszám arányok			
	9:5	8:5	8:4	6:5
BEBA	+	+	+	-
izolátum	-	-	-	-
Casei 01	+	-	-	-
GG	+	+	+	-
LA-5	+	+	+	-
Reuteri	+	+	+	-
Shirota	+ / -	+ / -	-	-

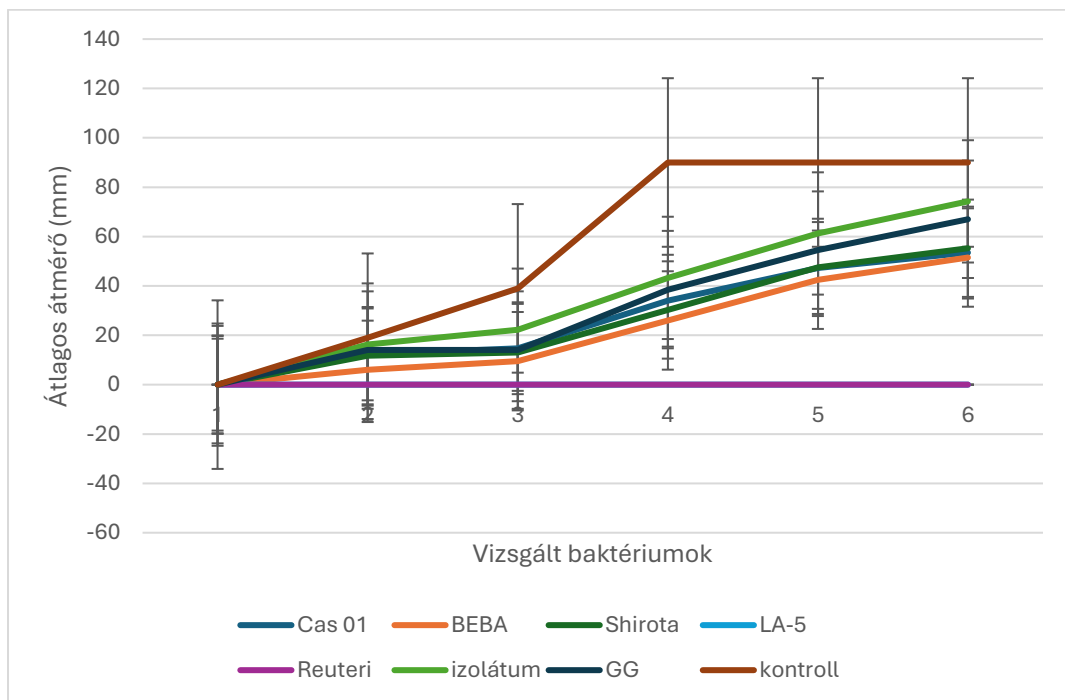
A táblázatban a +, hogy a baktérium gátolt, a -, hogy nincs gátlás, a kettő együtt pedig, hogy volt gátlás, de nem teljes mértékben, csak részben.

Ebben a vizsgálatban különböző koncentrációkban cseppentettünk ugyanarra a helyre, különböző koncentrációjú baktériumokat és különböző koncentrációjú spórákat, hogy megvizsgáljuk a gátlás mértékét.

A gátlás szempontjából a reuteri, az *La-5*, a *GG* és a *BEBA* ebben az esetben is jó eredményeket mutatott. A kétrétegű agarmódszer esetében nem volt egyértelmű, de itt már látszik, hogy a *Shirota* különböző koncentrációkon más gátlást mutat, a *casei 01* esetében pedig meg lehetett állapítani, hogy kizárólag csak nagy koncentráció mellett gátol (3. táblázat). Az izolátumunk továbbra sem mutatott jelentős gátló aktivitást.

Ahhoz, hogy megállapítsuk melyik koncentráció párosítás lenne alkalmas a többnapon át tartó kinetikai vizsgálathoz, megnéztük a táblázatban, melyik az a legkisebb baktérium koncentráció, ahol még a legtöbb törzs jelentősen gátolt. Ez alapján a 8:5 baktérium:spóra arányú kísérleti beállítást választottuk a további kísérlethez.

4.4. Az *A. flavus* Zt41 telepnövekedési kinetikája a probiotikus baktériumok hatására



17. ábra. Az *A. flavus* Zt41 telepnövekedési kinetikája a probiotikus baktériumok hatására

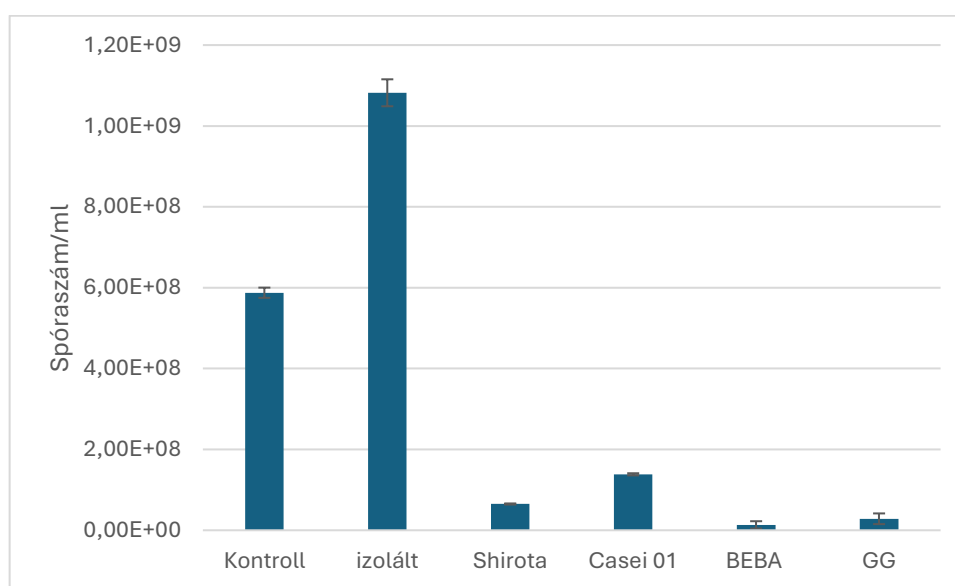
A kontrollhoz képest mindegyik baktérium mellett a penész kisebb növekedést mutatott. A reuteri és La-5 teljes mértékben gátolt, a többi baktérium mellett is kisebb mértékű a növekedés, az izolátum gátolt a legkevésbé. A kontrollhoz képest, az izolátum átmérője 15,75 mm-el kisebb volt, azaz 74,25 mm lett. Ezt követte a GG, mint az első cseppentéses kísérletnél. Ennek a baktériumnak az átlagos telepátmérője 67 mm lett.

A maradék három mintánk, azaz a *Shirota*, a *casei 01* és a *BEBA* magasabb gátló aktivitást mutattak. A *BEBA*-é volt a legjobb, mivel a telepek, csak 51,5 mm körül voltak. A *casei 01* és a *Shirota* nagyon hasonlóan viselkedtek. A telepeik átlagos mérete 55,2 mm körül volt (17. ábra).

4.5. Spóráképződés változása baktériumok hatására

Kísérletünk célja, hogy megvizsgáljuk milyen hatása volt a baktériumoknak a sporulációra az előző kísérletben növesztett telepeinken.

Ennél a kísérletünkénél a reuteri és az *La-5* nem kerültek a vizsgálatba, mivel teljesen gátolták a penész növekedését.



18. ábra. A milliliterenkénti spóraszám változása a különböző tejsavbaktériumok esetében

Ezen az ábrán láthatjuk, hogy az izolált mikróbánk nemcsak, hogy nem gátolta, de még inkább elősegítette a sporulációt. Az LA-5 és a reuteri, mivel teljesen gátolták a penész növekedését, ezért ezeknél a sporuláció nulla volt. A BEBA és a GG nagy mértékben hátráltatták a spórák képződését. A Shirota esetében körülbelül dupla annyi, a casei 01 esetében pedig körülbelül ötször annyi spóra képződött, mint GG esetében (18. ábra).

Itt a spóráképződés gátlását a következő képlet alapján számítottuk ki:

$$\left(\frac{N_c - N_t}{N_c} \right) * 100$$

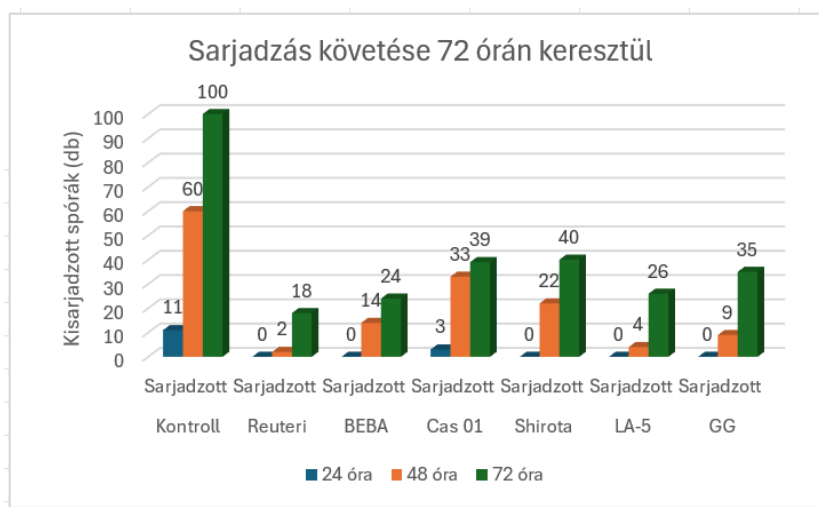
ahol az N_c a kontroll minta spóra száma

az Nt pedig a baktériummal gátolt minta spóraszáma

A kísérlet alapján az látszik, hogy az *izolált minta* egyáltalán nem gátolta a spóráképződést (183,7 %), és a *Casei 01* is csak kisebb mértékben (77 %-os csökkenés). A *Shirota* körülbelül 89 %-ban gátolja a spóráképződést. A *BEBA* és a *GG* nagymértékben gátolták (97,7-95,1 %) a spórák képződését.

4.6. Baktériumok hatása a spóra-sarjadzásra

Ennél a vizsgálatnál arra voltunk kíváncsiak, hogy a spórák sarjadzását mennyire tudják gátolni a vizsgálatba vont probiotikus baktériumok.



19. ábra A sarjadzás követése 72 órán keresztül

A 19. ábrán azt láthatjuk, hogy a kontroll mintában a spórák már 24 óra elteltével kezdtek el kisarjadzani.

A reuterivel kevert mintában 72 óra elteltével is csak alig volt megfigyelhető sarjadzás, mivel a reuteri baktérium már 24 óra elteltével elszaporodott. A *casei 01*-ben 48 óra elteltével hirtelen elkezdett megnőni a kisarjadzott spórák mennyisége feltehetőleg az miatt, mivel a *casei 01* nem gátolta a spórák növekedését megfelelően. Az LA-5 és a GG sokáig gátolták a spórák sarjadzását, mivel 48 óra elteltével sem jelent meg 10-nél több spóra, de 72 óra elteltével, már ezek sem gátoltak megfelelően (19. ábra)

Ennél a kísérletnél is hasonló képletet használtunk, mint az előzőnél:

$$\left(\frac{Gc - Gt}{Gc}\right) * 100$$

Az eredményekből látszik, hogy a *reuteri* gátolja legjobban a sarjadzást, majdnem 90%-ban. Az *La-5* is még 80% felett van (82,46%). A *BEBA* és a *GG* is még 70% felett volt, míg a *Shirota* és a *casei 01* már csak 63%-ot és 56%-ot értek el.

A lentebbi fotókról a következőket tudjuk megállapítani. A kontroll erőteljesen növekedett 72 óra elteltével. A baktériumok mellett mérsékelt sarjadzás volt csak megfigyelhető, mivel a tejsavbaktériumok nagy mértékben elszaporodtak és jelenlétükkel és az általuk termelt metabolitokkal gátolták a penészspórák sarjadzását. 24 óra elteltével elkezdődött a spórák sarjadzása, de mivel a baktériumok felezési ideje nagyon rövid, ezért 48 óra elteltével már lényegesen több tejsavbaktérium volt elszaporodva, 72 óra múlva pedig a baktériumok jelentős mennyiségű tápanyagot fogyasztottak el és gátló metabolitot termeltek, hogy a spóráknak nem maradt elegendő tápanyag, illetve gátlódott a sarjadzásuk (20 - 41. ábra).

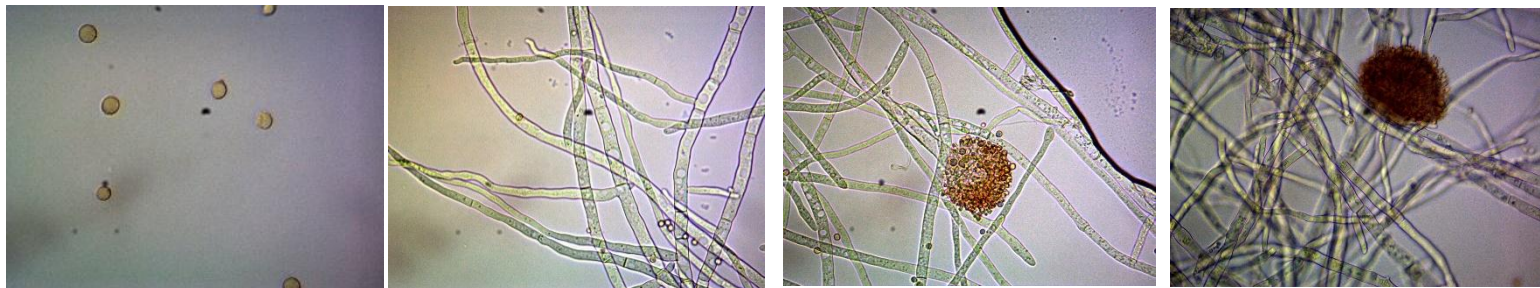
20-23. ábra Kontroll

0. napos minta

24. óra

48. óra

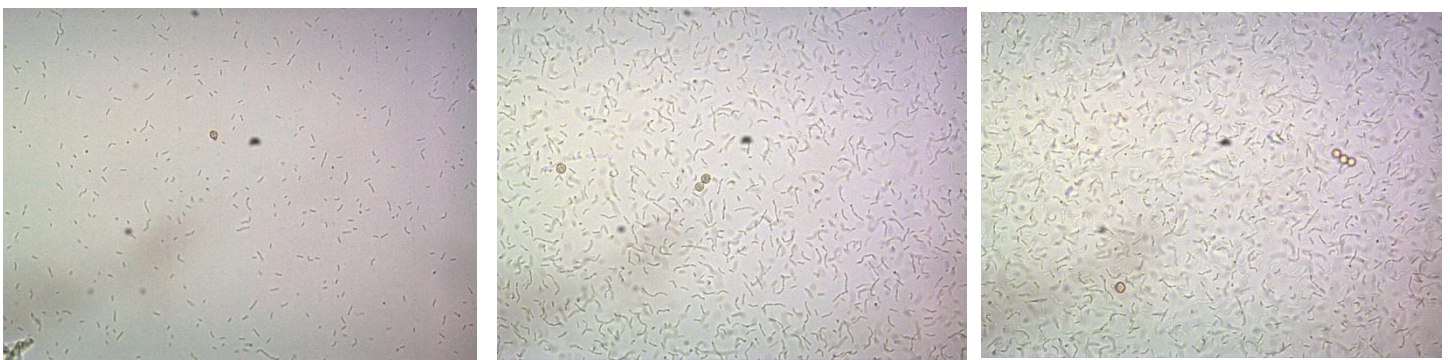
72. óra



24-26. ábra BEBA 24. óra

48. óra

72. óra



27-29. ábra Casei 01 24. óra

48. óra

72. óra

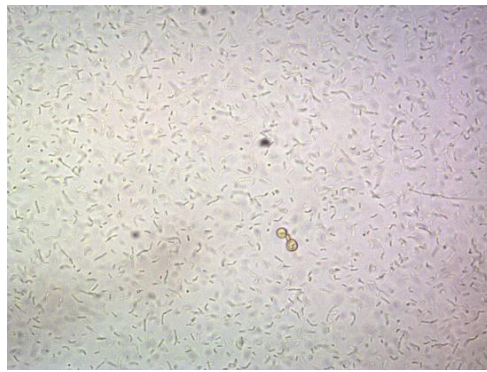
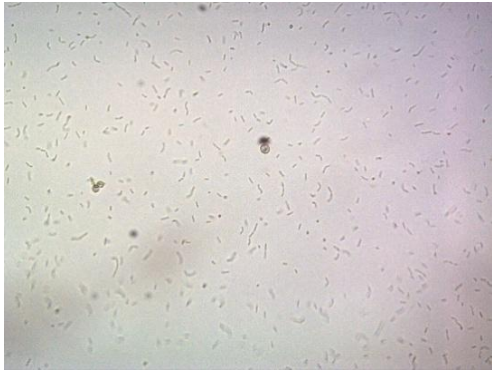


30-32. ábra GG

24. óra

48. óra

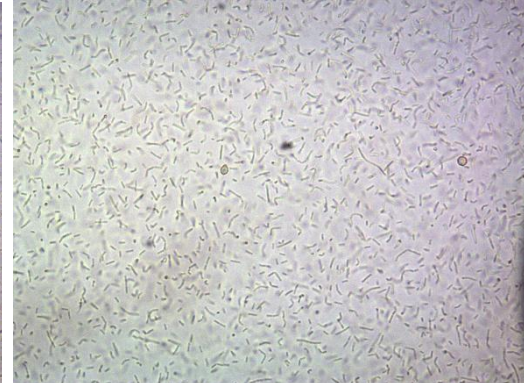
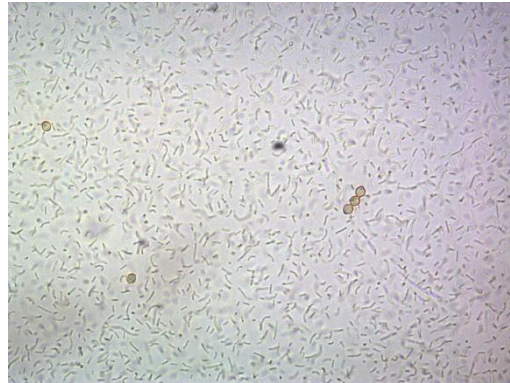
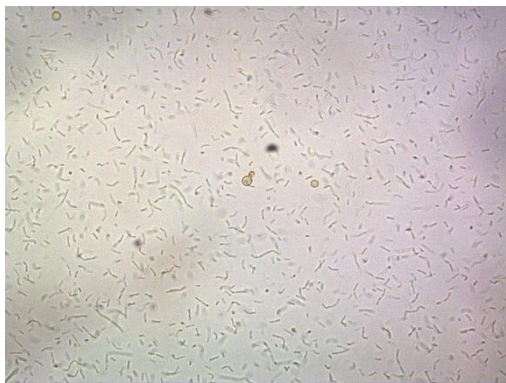
72. óra



33-35. ábra Reuteri 24. óra

48. óra

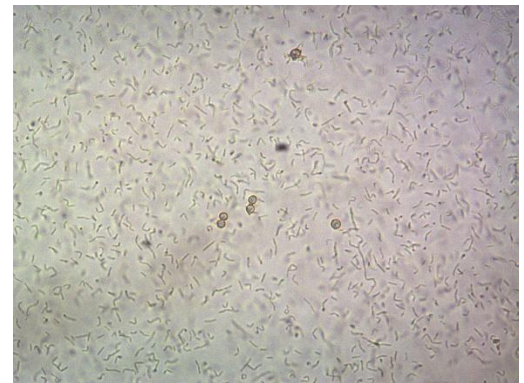
72. óra



36-38. ábra Shirota 24. óra

48. óra

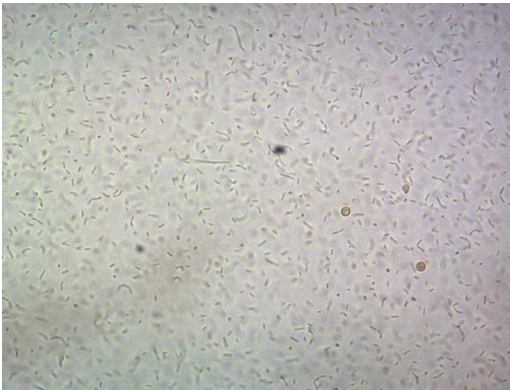
72. óra



39-41. ábra LA-5 24. óra

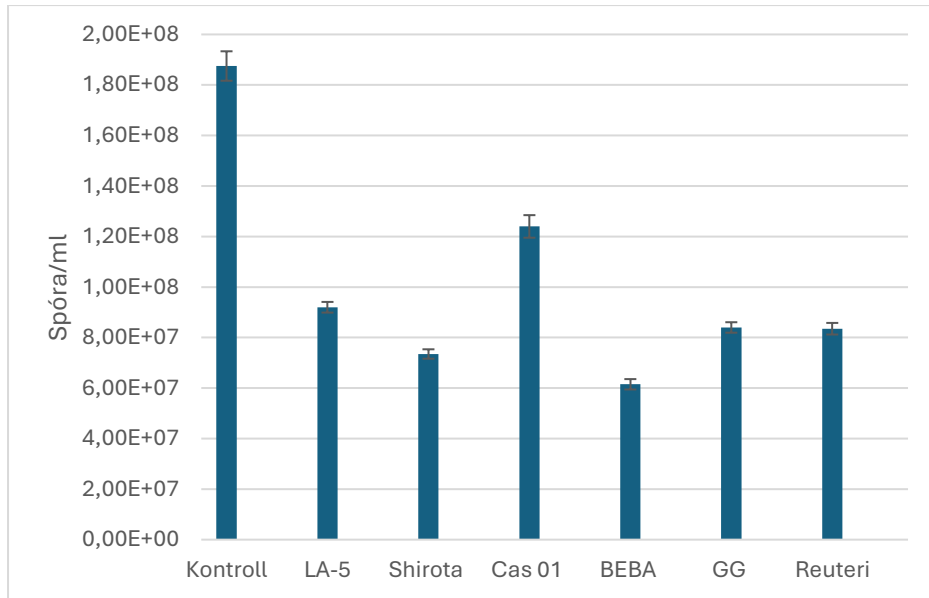
48. óra

72. óra



4.7. Penészgomba gátlása probiotikus baktériumokkal kenyéren

Ennek a vizsgálatnak az volt a célja, hogy lássuk, hogy egy laboratóriumi tápközegtől eltérő élelmiszer-mátrixon, mint egy kenyéren, ami egy mindennapi boltban is megvehető, milyen gátlási aktivitással rendelkeznek a probiotikus baktériumok (42. ábra)

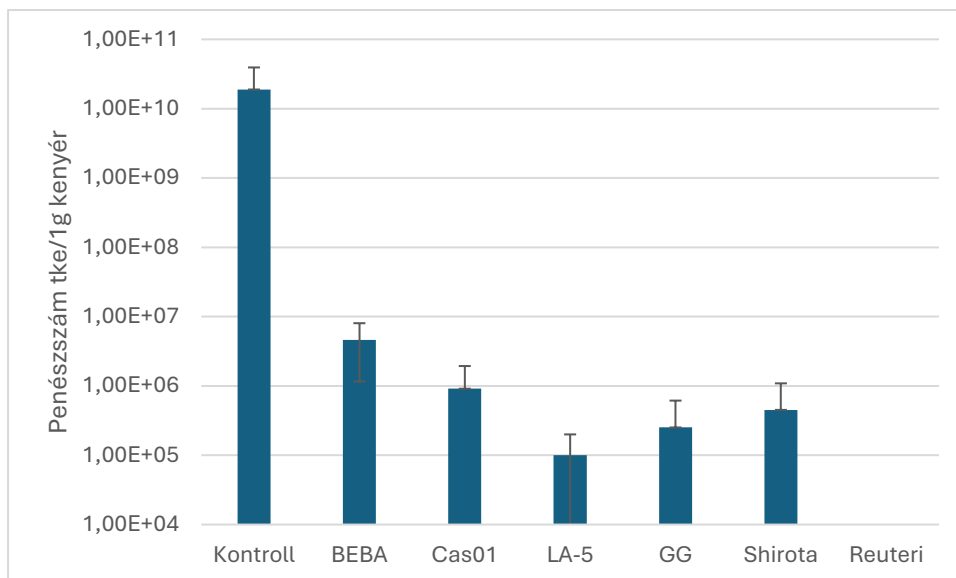


42. ábra A kenyérmintáról lemosott milliliterékénti spóraszám változása a különböző tejsavbaktériumok esetében

Az ábrán jól látszik, hogy a kontrollhoz ($1,88 \cdot 10^8$) képest, a *Casei 01* kevésbé gátolta a spóráképződést ($1,24 \cdot 10^8$) a kenyér felületén. Az *LA-5* ($9,2 \cdot 10^7$) és a reuteri ($8,35 \cdot 10^7$) és a GG ($8,4 \cdot 10^7$) jobban gátoltak. A Shirota, ami az agaron való vizsgálatkor kevésbé gátolt, a kenyéren való vizsgálatkor jobb gátlást mutatott ($7,35 \cdot 10^7$ spóra/ml). A BEBA mutatta a legjobb gátlást a kenyéren való vizsgálat esetében ($6,15 \cdot 10^7$).

1 g kenyér tömegére korrigálva a következő penészsámokat kapjuk (43. ábra):

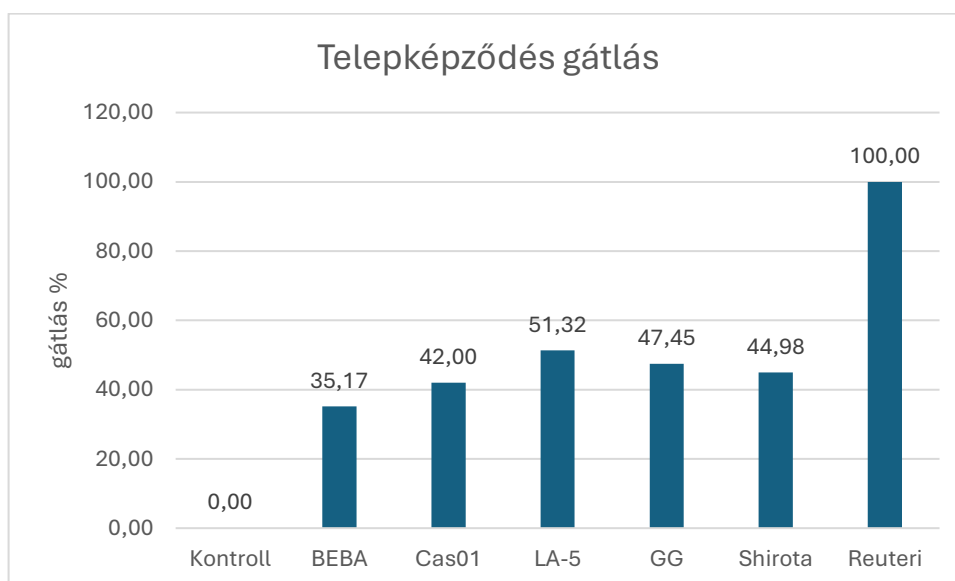
Penészsám:



43. ábra. 1 gramm kenyéren megjelenő telepképző egység száma

Számoltunk telep gátlást a sarjadzás gátlás mintájára ennél a kísérletnél is:

$$\left(\frac{N_c - N_t}{N_c} \right) * 100$$



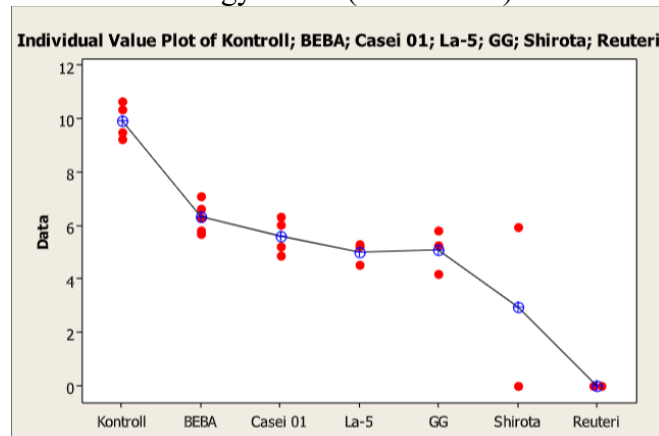
44. ábra. A telepképződés gátlása százalékosan megjelenítve

A fenti diagrammon látható, hogy a kenyéren elvégzett kísérlet esetében is a *reuteri* mutatta a legnagyobb gátlást, mivel 100%-ban gátolta a telepek képződését. A második legjobb az *LA-5* volt, amellyel viszont csak 51%-os gátlást értünk el. Három tejsavbaktériumunk eredményezett 40% feletti gátlást. A *GG* ~47,5; a *Shiota* ~45; a

Casei 01 pedig 42%-ban gátolta a telepek megjelenését. A BEBA mutatta a legkisebb gátlást a telepek megjelenésével szemben (35,17%). (44. ábra)

4.8. Kenyérmintán kinőtt penésztelepek és spórák számának statisztikai összehasonlítása

A kontroll és baktériummal kezelt minták eredményeinek statisztikai kiértékeléséhez a számolt és a hígításokkal és bemért kenyér tömegével korrigált, egy gramm kenyérré kifejezett penésztelepszámok tízes alapú logaritmus értékeit vettük alapul. Egyutas ANOVA vizsgálatot végeztünk a mintákon, hogy megállapítsuk a több független csoport penészszámaának, mint egyetlen szempont közötti különbségek szignifikanciáját, valamint Tukey post-hoc tesztet végeztünk, hogy meghatározzuk mely csoportok különböznek egymástól (45-46. ábra)

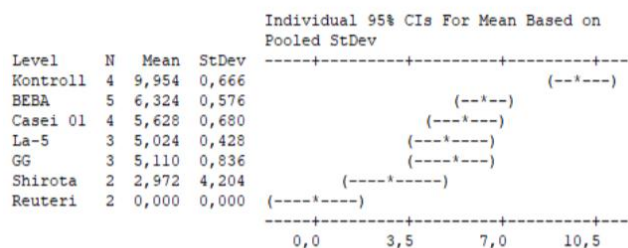


45. ábra Kenyérminták penészszámaának átlaga és egyedi értékei

One-way ANOVA: Kontroll; BEBA; Casei 01; La-5; GG; Shiota; Reuteri

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	6	156,61	26,10	17,79	0,000
Error	16	23,48	1,47		
Total	22	180,09			

S = 1,211 R-Sq = 86,96% R-Sq(adj) = 82,07%

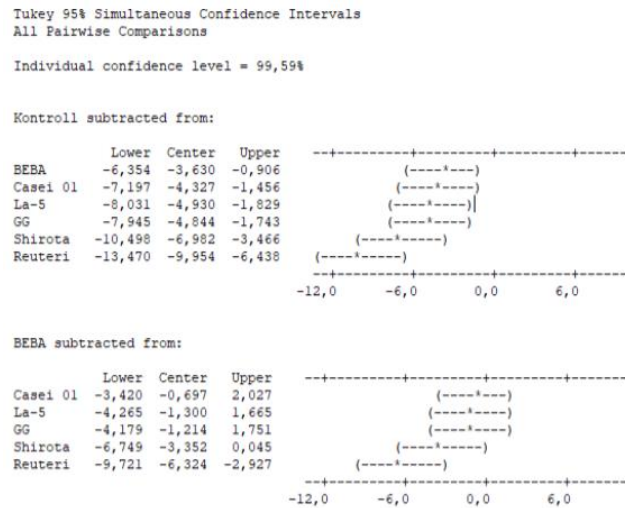


Pooled StDev = 1,211

46. ábra Kenyérminták penészszámaának egyutas ANOVA összehasonlítása

Az ANOVA p valószínűségi értéke (0.00) egyértelműen jelzi, hogy van olyan csoport, amelynek átlaga szignifikánsan eltér a többitől.

Míg a Tukey-teszt konfidencia-intervallum vizsgálatából megállapítottuk, hogy a kontroll minta mindegyik probiotikus baktériumos mintától szignifikánsan különbözik, valamint a reuteri törzset tartalmazó minta penészszáma tér el az összes többi baktériumos mintáétól, a Shirota törzset kivéve (47. ábra).

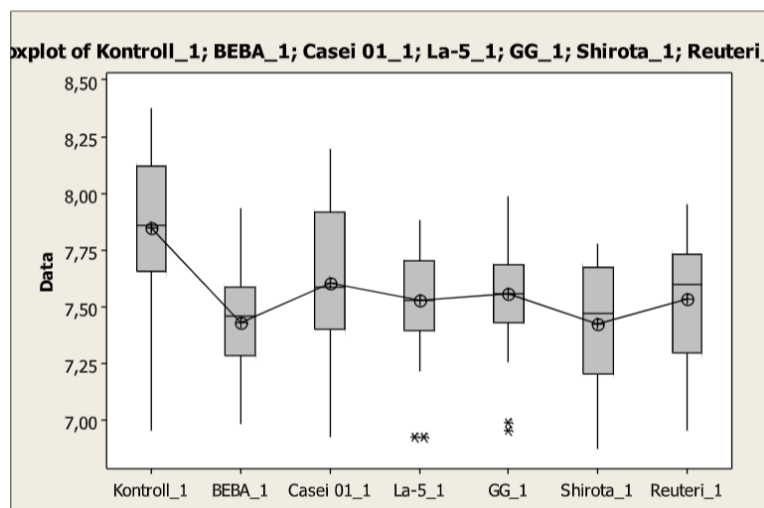


47. ábra Kenyérminták penészszámanak Tukey post hoc tesztjének részlete

A statisztikai kiértékelés is megerősítette, hogy a probiotikus baktériumok jelenléte szignifikánsan csökkenti a kenyéren a penészek számát a tejsavbaktériumot nem tartalmazó kontroll mintához képest. Viszont az egyes törzsek penészgátló hatása között, a reuteri törzset kivéve, nincs szignifikáns különbség. A reuteri probiotikus baktérium ebben az esetben is a legjobb eredményt mutatta a penészek növekedésének teljes gátlásával.

Kenyérmintán számolt spóraszám statisztikai összehasonlítása

A kontroll és baktériummal kezelt minták eredményeinek statisztikai kiértékeléséhez a számolt és a hígításokkal és bemért kenyér tömegével korigált, egy gramm kenyérré kifejezett spóraszámok tízes alapú logaritmus értékeit vettük alapul. Egyutas ANOVA vizsgálatot végeztünk a mintákon, hogy megállapítsuk a több független csoport spóraszámának, mint egyetlen szempont közötti különbségek szignifikanciáját, valamint Tukey post-hoc tesztet végeztünk, hogy meghatározzuk mely csoportok különböznek egymástól (48-49. ábra).

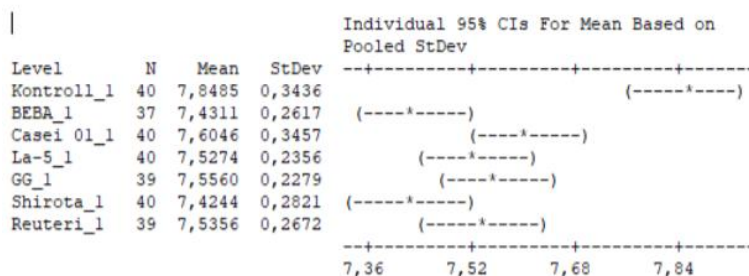


48. ábra Kenyérminták spóraszámának boxplot diagramja

One-way ANOVA: Kontroll_1; BEBA_1; Casei 01_1; La-5_1; GG_1; Shiota_1; .

Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	6	4,8235	0,8039	9,93	0,000
Error	268	21,6864	0,0809		
Total	274	26,5099			

S = 0,2845 R-Sq = 18,20% R-Sq(adj) = 16,36%

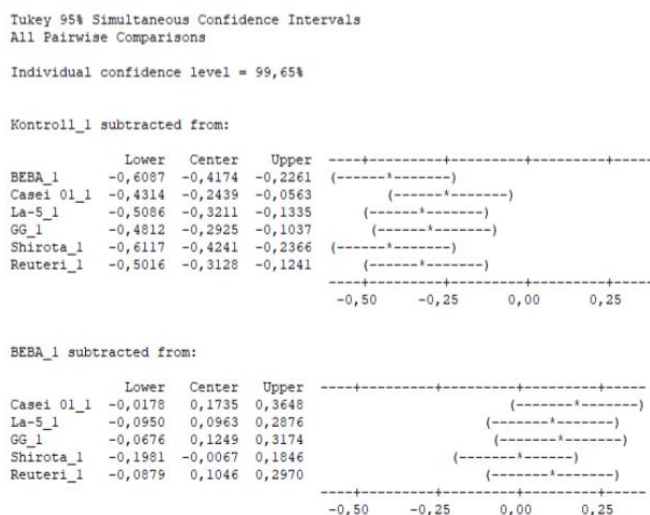


Pooled StDev = 0,2845

49. ábra Kenyérminták spóraszámának egyutas ANOVA összehasonlítása

Az ANOVA p valószínűségi értéke (0.00) egyértelműen jelzi, hogy van olyan csoport, amelynek átlaga szignifikánsan eltér a többitől.

A Tukey-teszt konfidencia-intervallum vizsgálatából megállapítottuk, hogy a kontroll minta mindegyik probiotikus baktériumos mintától szignifikánsan különbözik, valamint hogy a baktériumos minták spóraszama nem különbözik egymástól (50. ábra).



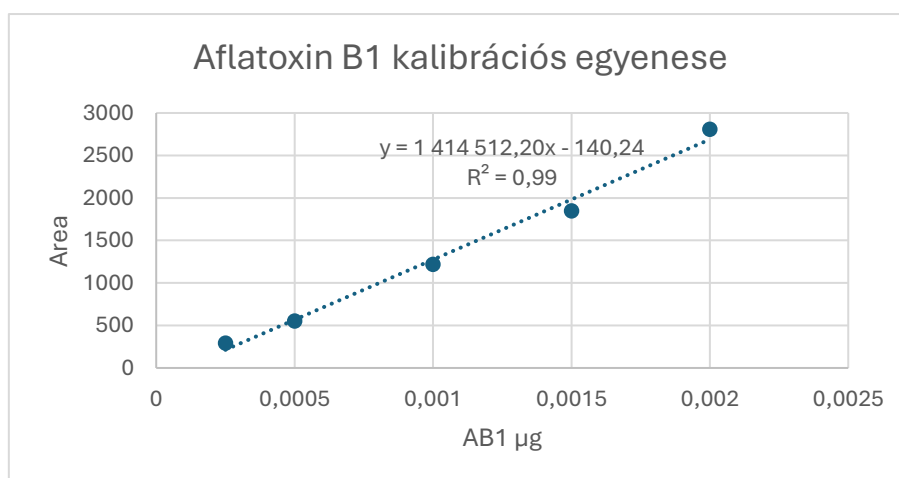
50. ábra Kenyérminták spóraszámának Tukey post hoc tesztjének részlete

A statisztikai kiértékelés is megerősítette, hogy a probiotikus baktériumok jelenléte szignifikánsan csökkenti a kenyéren, mint élelmiszer-mátrixon, kialakuló spórák számát a tejsavbaktériumot nem tartalmazó kontroll mintához képest. Viszont az egyes tejsavbaktérium törzsek spóráképződés csökkentő hatása között nincs szignifikáns különbség.

A penészszám és a spóraszám gátlásának eredményei közötti különbséget, különösen a reuteri törzs esetén, az okozhatta, hogy noha a kenyéren az arra ráoltott eredeti spóraszám megmaradt, a baktérium gátolta a spóra sarjadzását, illetve a penész kifejlődését.

4.9. Az Aflatoxin B1 képződésének változása probiotikus baktériumok hatására

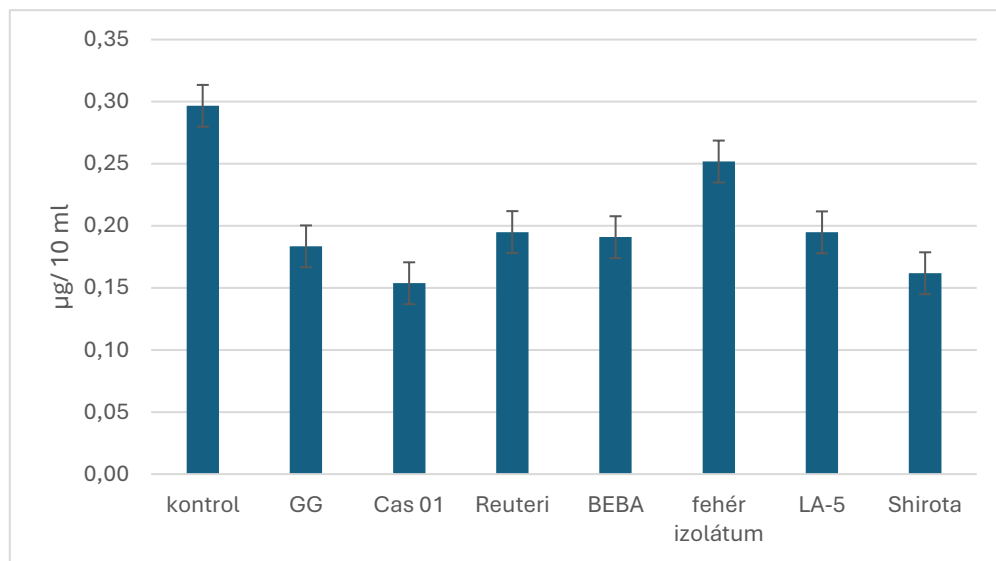
A penész által termelt Aflatoxin B1 mennyiséget RP- HPLC módszerrel határoztuk meg. A mennyiségi meghatározáshoz elsőként kalibrációs görbét készítettünk (51. ábra).



51. ábra Aflatoxin B1 kalibrációs egyenes

A minták első csoportjánál (az agar esetében) az eredményt $\mu\text{g}/10\text{ ml}$ extrakciós elegyre adtuk meg, a kenyér esetében pedig $\mu\text{g}/1\text{ g}$ kenyérmintára. Utóbbinál még a pontosan bemért tömegre kellett korrigálnunk az eredményeket.

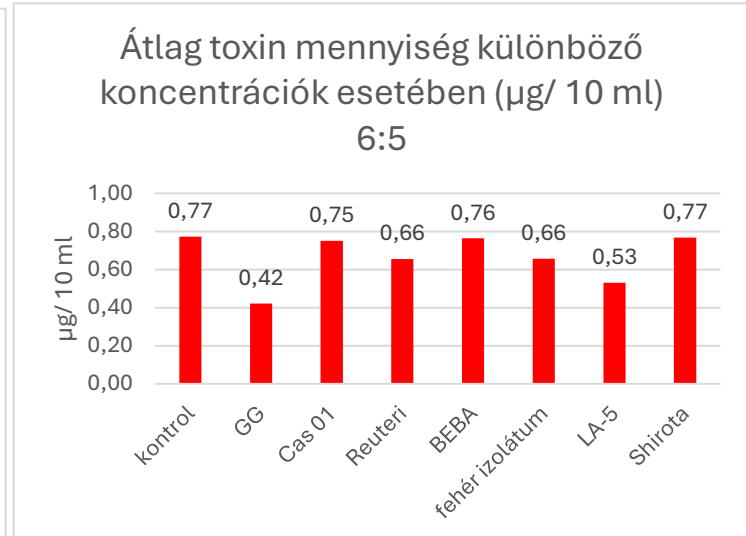
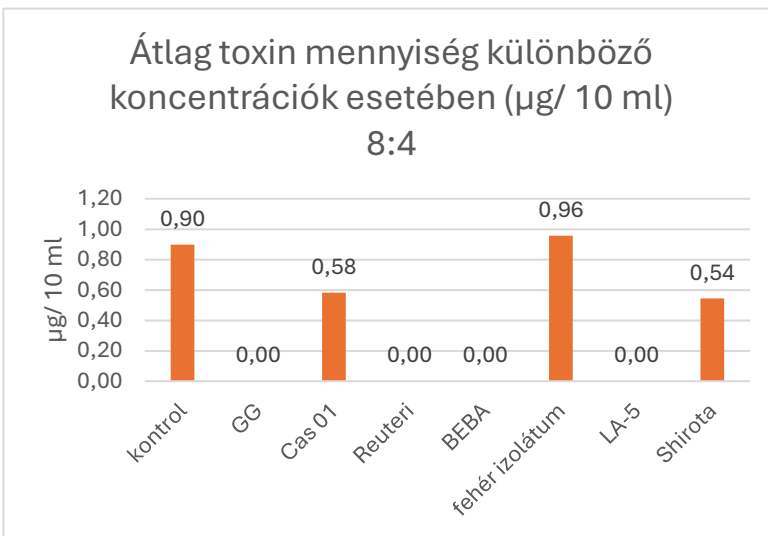
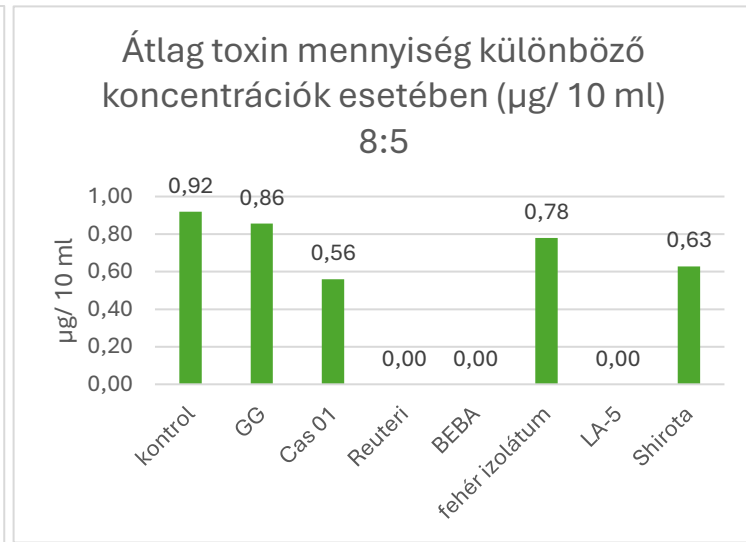
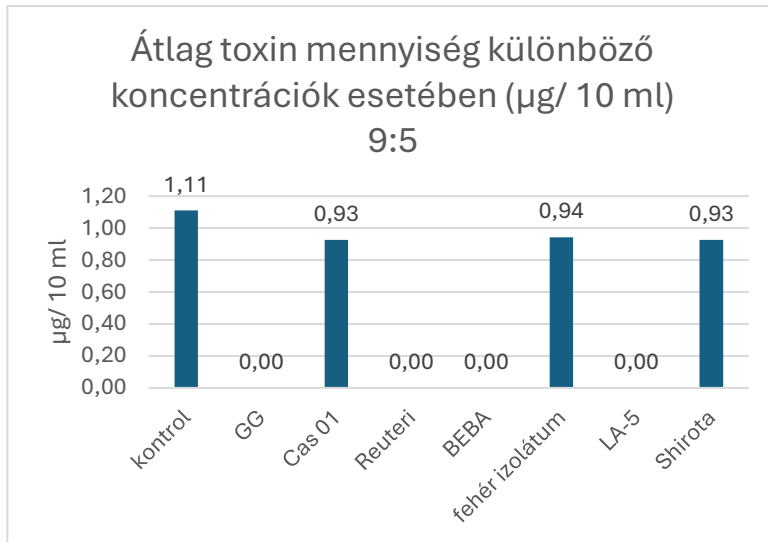
Ehhez kiszámoltuk az átlagokat az összetartozó minták esetében (52. ábra. az együttesen felvitt; 53-56. ábra: a külön-külön felvitt és ezen belül a különböző baktériumokhoz tartozó eltérő hígítású minták a kontroll mintával együtt; és az 57. ábra: a kenyéren vizsgált) oszlopdiagrammon ábrázoltuk.



52. ábra. Az átlag toxin mennyisége $\mu\text{g}/10\text{ ml}$ -re számítva különböző tejsavbaktériumok esetében agarra cseppentétes módszer esetén

Az 52. ábrán látható, hogyha az agarra cseppentétes módszerrel visszük fel a mintákat, akkor a *Casei 01* gátolja legjobban a toxintermelődést, amíg az izolátum a legkevésbé. Érdekes, hogy ebben az esetben a spórázást és szaporodást jól gátló fajok, mint a reuteri és az *LA-5* mellett is történt toxin termelés.

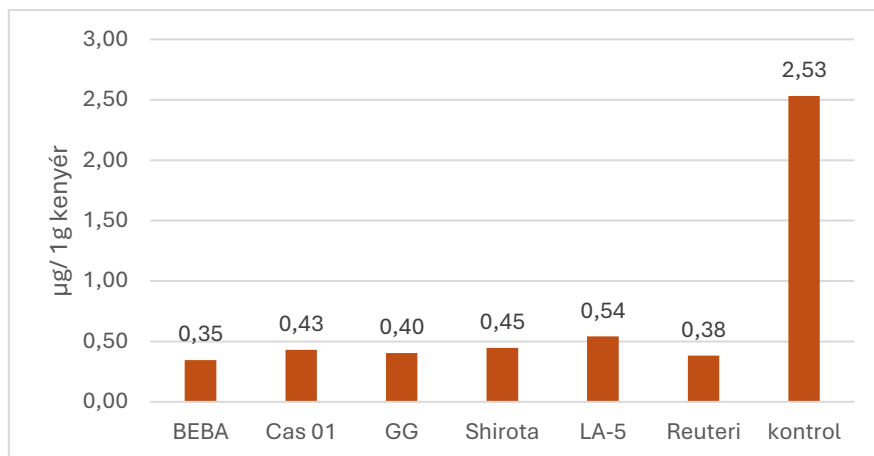
A következő ábrákon a különböző koncentrációban végzett gátlások folyamán termelődött toxinmennyiségeket láthatjuk (53-56. ábra).



53-56. ábra A különböző baktérium:spóra koncentrációban végzett kísérletek során termelődött aflatoxin B1 átlag mennyisége µg/10 ml-mosóoldatra számolva

Az ábrákról le tudjuk vonni azt a következtetést, hogy a vizsgált törzsek közül a *BEBA*, a *Limosilactobacillus reuteri* és az *LA-5* bizonyultak a legerősebb toxintermelést gátló hatású tejsavbaktériumoknak. Több koncentráció esetében is teljes toxinmentességet eredményeztek (kivéve a 6:5-ös koncentrációt). A *GG* és *Shirota* törzsek közepes mértékű, míg a *Casei 01* és az *izolátum* csak gyenge gátló hatást mutattak. Az eredmények egyértelműen azt mutatják, hogy a tejsavbaktériumok toxin-csökkentő képessége sejt-koncentrációfüggő, és bizonyos törzsek már viszonylag alacsony sejtkoncentráció mellett is hatékonyan gátolják a toxintermelést.

A kenyéren vizsgált toxinmennyiség meghatározásához a kenyérdarabkáink valós tömegével kellett korrigálnunk. Az alábbi eredményeket kaptuk (57. ábra).



57. ábra Átlag aflatoxin B1 toxin mennyisége 1g kenyér mintán

Az 57. ábra a különböző tejsavbaktérium-törzsekkel kezelt mintákat, illetve a kontrollban mért átlagos toxinmennyiséget mutatja 1 g kenyérré vonatkoztatva. Kimutatható volt, hogy valamennyi vizsgált törzs jelentősen csökkentette a toxin mennyiségét a kontrollhoz képest.

A kontroll mintában a legmagasabb toxinérték volt mérhető (2,53 µg/g). A legalacsonyabb toxinmennyiség a *BEBA* törzs esetében volt tapasztalható (0,35 µg/g), ezt követte a reuteri (0,38 µg/g) és a *GG* törzs (0,40 µg/g). A *Casei 01*, *Shirota* és *LA-5* mintákban valamivel magasabb értékeket mértünk (0,43–0,54 µg/g). Ez az eredmény elég jó egyezést mutat egy korábbi irodalmi adattal, ahol a *reuteri* által termelt reuterin metabolit teljes gátlást vagy jelentős csökkentést okozott az *Aspergillus flavus* konídium-germinációjában és aflatoxin-termelésében (Purnawita et al., 2024). A *GG* esetében is találhatunk további tanulmányokat, amik azt támasztják alá, hogy ez a törzs képes az aflatoxin B1 fizikai megkötésére és inaktiválására (Gratz et al., 2007).

Érdekes megfigyelés, hogy a *BEBA*, reuteri mellett a *GG* törzs mutatta a legerősebb toxin csökkentő hatást, míg a *LA-5* esetében a gátlás mértéke valamivel mérsékeltebb volt, mint a korábbi kísérletek esetében. Azonban az egyes tejsavbaktériumokat tartalmazó minták között nincs olyan jelentős különbség.

5. Következtetések és javaslatok

A kísérletek tapasztalatai alapján elmondható, hogy a probiotikus tejsavbaktériumok megfelelő potenciállal rendelkeznek a penészek növekedésének, spóráképződésének és az aflatoxinok kialakulásának gátlására. Megfigyelhető volt, hogy egyes baktériumok többféle kísérleti beállítás mellett is gátolják a penészgombák szaporodását. Közvetlenül akadályozhatják a hifanövekedést és a spóráképződést vagy csökkenthetik a toxintermeléshez szükséges anyagcserét is.

Az eredményekből egyértelműen látható, hogy a probiotikus baktériumok *Asp. flavus* Zt41-es törzs szaporodására és toxintermelésére kifejtett hatása koncentráció függő.

A *Limosilactobacillus reuteri* és a *Lactobacillus acidophilus* LA-5 törzseknek stabil és reprodukálható penésznövekedés-gátló hatása volt, amely nem csak a laboratóriumi tápközegen, de az élelmiszermatrixon is megmutatkozott.

A penésznövekedés-, spórázás-, sarjadzás-, és toxintermelés-gátlás között nem találtunk szoros összefüggést.

A BEBA gyermektápszer mintájából kimutatható volt, hogy a benne megtalálható baktériumok összesége jelentős toxin-csökkenést eredményez, amely egy nagyon fontos szempont az élelmiszerlánc aflatoxin-szennyezettségének mérséklésének, biztonságossá tételének érdekében.

Javaslatok a jövőre nézve:

Célszerű lehet a leghatékonyabb törzsek (*reuteri*, BEBA, LA-5) kombinált alkalmazását is megvizsgálni, mivel additív, sőt akár szinergikus hatás is felléphet együttes használatuk esetén.

Indokolt lenne a gátlás mechanizmusának mélyebb vizsgálata, különös tekintettel a baktériumok által termelt szerves savakra, fehérjékre és egyéb metabolitokra egyaránt, egy szélesebb körű ismeret megszerzése érdekében.

A probiotikus baktériumok aflatoxin-csökkentő képességének vizsgálata (sejtmentes felülúszó, adszorpciós kísérletek elvégzése) segíthetne pontosítani, hogy a toxintermelés gátlódik, vagy biológiai úton történő aflatoxin-lebontás, esetleg megkötés által történik-e a detoxifikáció.

6. Összefoglalás

Kutatásom célja az aflatoxin B1 toxint termelő *Aspergillus flavus* ZT41 törzs növekedésének és toxintermelésének gátlása volt különböző probiotikus tejsavbaktériumok alkalmazásával. A vizsgálatok során hét baktériumtörzs gátló aktivitását elemeztem különböző táptalajokon, különböző módszerekkel és koncentrációarányok mellett, valamint egy élelmiszer-mátrixon (kenyéren) is megvizsgáltam a hatásukat, hogy minél szélesebb körű eredményt tudjak levonni.

A kétrétegű agar módszerrel végzett előzetes kísérletek alapján, amikor a két napos baktérium inkubációt követően került a penész a tejsavbaktériumok mellé, a *Limosilactobacillus reuteri* törzs bizonyult a legerősebb gátló hatásúnak, míg a *Lacticaseibacillus casei* Shirota és a *Lactobacillus acidophilus* LA-5 részleges gátlást mutattak.

A cseppentéses módszerrel végzett vizsgálatok során, amikor a baktériumok és penészspórák egyazon helyben és időben találkoztak, a reuteri, LA-5, GG és BEBA törzsek is jó eredményeket adtak. A különböző baktérium és penész koncentrációkkal végzett kísérletek azt mutatták, hogy a *Casei 01* kizárólag magas sejtkoncentráció mellett fejtett ki számottevő gátlást. A BEBA-ból izolált ismeretlen tejsavbaktérium nem mutatott szignifikáns aktivitást egyik esetben sem.

A kinetikai vizsgálatok (8:5 baktérium–spóra arány mellett) igazolták, hogy a legtöbb tejsavbaktérium csökkentette az *A. flavus* telepek növekedési sebességét, sőt a reuteri és az LA-5 törzsek teljes mértékű gátlást eredményeztek. A spóraszám-meghatározás szintén megerősítette, hogy a baktériumok jelenléte jelentősen redukálta a képződött spórák mennyiségét. Valamint a folyékony tápközegben végzett 72 órás spóra-sarjadzás vizsgálat is megerősítette a baktériumok gátló aktivitását.

A kenyérmintákon végzett vizsgálatok során a probiotikus baktériumok szintén hatékonyan, szignifikáns mértékben ($p < 0,05$) csökkentették mind a penésztelepek számát és az átlagos spóraszámot is. A reuteri törzs 100%-os penésztelep képződés-gátlást mutatott, míg a GG, Shirota és *Casei 01* 40–50% közötti gátló aktivitást fejtettek ki.

Az RP-HPLC mérések szerint az aflatoxin B1 mennyisége minden kezelt mintában jelentősen alacsonyabb volt, mint a kontrollban. A BEBA, reuteri és GG törzsek esetében 80–90%-os toxinredukció volt kimutatható a kenyéren végzett kísérletek során.

Ezen eredmények alapján megállapítottam, hogy a vizsgált probiotikus tejsavbaktériumok képesek gátolni az aflatoxintermelő *A. flavus* ZT41 növekedését és toxintermelését. A

legnagyobb hatékonyságot a *Limosilactobacillus reuteri*, a *Lactobacillus acidophilus* LA-5 és a BEBA izolált kevert baktériumtenyésztete mutatták.

7. Irodalomjegyzék:

Abdallah, K. A., Al-Anany, R. A. H. R. J., El-Salam, M. A. (2021) Toxicity, Mitigation, and Chemical Analysis of Aflatoxins and Other Toxic Metabolites Produced by *Aspergillus*: A Comprehensive Review <https://doi.org/10.3390/toxins17070331>
<https://www.mdpi.com/2072-6651/17/7/331>

Amaike, S., & Keller, N. P. (2011): *Aspergillus flavus*. Annual Review of Phytopathology, Vol. 49:107-133.
<https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-phyto-072910-095221>

Ben Taheur, F., Mansour, C., Kouidhi, B., Chaieb, K. (2019): Use of lactic acid bacteria for the inhibition of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus carbonarius* growth and mycotoxin production *Toxicology Reports* <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.05.004>
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0041010119301485?via%3Dihub>

Bennett, J. W., Klich, M. (2003) Mycotoxins *Clinical Microbiology Reviews*,
<https://journals.asm.org/doi/10.1128/cmr.16.3.497-516.2003>

Bobek, J., Šmídová, K., Čihák, M. (2017): A Waking Review: Old and novel insights into the spore germination in *Streptomyces*. *Frontiers in Microbiology*, 8:2205
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02205>

<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2017.02205/full>

Chandravarnan, P., Agyei, D., Ali, A. (2025): Green and sustainable techniques for mycotoxin decontamination in rice: Microwave and UV technology. *Food Control*
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2025.111316>

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713525001859>

DeGirolamo, A., Ciasca, B., Stroka, J., Bratinova, S., Pascale, M., Visconti, A., Lattanzio, V. M. T. (2017) Performance evaluation of LC–MS/MS methods for multi-mycotoxin determination in maize and wheat by means of international Proficiency Testing *Food Additives & Contaminants: Part A* <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.11.005>
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165993616302047?casa_token=Tm8nyjUJYcAAAAA:Ras_cFsZXwGD_UWe41gPLJIZhqpMtuoweBBu7PfgKvaeaNuru4YkQttDce0PKjBtL7UeMc_eQ

Divyashree, S., Shruthi, B., Vanitha, P. R., Sreenivasa, M. Y. (2023): Probiotics and their postbiotics for the control of opportunistic fungal pathogens: A review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2023.e00800>
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10196798>

- El Youssfi, M., El Akhdari, S., El Jalil, M. H., Laghzizil, A. (2025). Mycotoxins status in Morocco during the period 2011–2024: Monitoring in food and feed, risk assessment and regulation aspects. *Food Control*, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2025.111151>
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713525000209>
- El-Nezami, H., Kankaanpaa, P., Salminen, S., Ahokas, J. (1998) Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, aflatoxin B1 *Food and Chemical Toxicology*, 36 (4), pp. 321 - 326, DOI: 10.1016/S0278-6915(97)00160-9
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9651049>
- F.F. Veras et. al. (2016) Inhibition of mycotoxin-producing fungi by Bacillus strains isolated from fish intestines *International Journal of Food Microbiology* 238 23-32
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27589021>
- Fernández de Ullivarri, M., Arbulu, S., Garcia-Gutierrez, E., Cotter, P. D. (2020): Antifungal peptides as therapeutic agents. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10:105. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00105>
<https://www.frontiersin.org/journals/cellular-and-infection-microbiology/articles/10.3389/fcimb.2020.00105/full#h8>
- Galen Biolabor (n.d.) Élesztő és penészgombák jellemzése <https://galenbiolabor.hu/eleszto-es-peneszgombak-jellemzese>
- Gaudioso, G., Weil, T., Marzorati, G., Solovyev, P., Bontempo, L., Franciosi, E., Bertoldi, L., Pedrolli, C., Tuohy, K. M., Fava, F. (2022) Microbial and metabolic characterization of organic artisanal sauerkraut fermentation and study of gut health-promoting properties of sauerkraut brine *Journal of Functional Foods* <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.929738>
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36312966>
- Gemedé, H.F. (2025) Toxicity, Mitigation, and Chemical Analysis of Aflatoxins and Other Toxic Metabolites Produced by Aspergillus: A Comprehensive Review. *Toxins* 17(7):331. <https://doi.org/10.3390/toxins17070331> <https://www.mdpi.com/2072-6651/17/7/331>
- Gratz, S., Wu, Q. K., El-Nezami, H., Juvonen, R. O., Mykkänen, H., Turner, P. C. (2007): Lactobacillus rhamnosus GG reduces aflatoxin B1 transport, metabolism, and toxicity in Caco-2 cells. *Applied and Environmental Microbiology*. <https://doi.org/10.1128/AEM.02944-06> <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aem.02944-06>

- He J., Zhou T. (2010) Patented techniques for detoxification of mycotoxins in feeds and food matrices *Recent Patents on Food, Nutrition and Agriculture*, 2 (2), pp. 96 - 104, DOI: 10.2174/2212798411002020096 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20653554>
- Hedayati, M. T., Pasqualotto, A. C., Warn, P. A., Bowyer, P., & Denning, D. W. (2007). *Aspergillus flavus*: Human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology*, <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/007641-0>
<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.2007/007641-0>
- Hussein, S. H., Brasel, J.M. (2001) Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals *Toxicology* [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(01\)00471-1](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(01)00471-1)
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0300483X01004711>
- Karunaratne, A., Wezenberg, E., Bullerman, B, L. (1990) Inhibition of Mold Growth and Aflatoxin Production by *Lactobacillus* spp 1, *Journal of Food Protection* <https://doi.org/10.4315/0362-028X-53.3.230> <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31018390>
- Mihaylova-Garnizova, R., Davidova, S., Hodzhev, Y., Satchanska, G. (2024): Antimicrobial Peptides Derived from Bacteria: Classification, Sources, and Mechanism of Action against Multidrug-Resistant Bacteria. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(19):10788. <https://doi.org/10.3390/ijms251910788> <https://www.mdpi.com/1422-0067/25/19/10788>
- Nasrollahzadeh, A., Mokhtari, S., Khomeiri, M., Saris, P.E.J. (2022): Antifungal Preservation of Food by Lactic Acid Bacteria. *Foods*, 11(3):395., doi:10.3390/foods11030395. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8834354>
- Negeri, N. G., Woldeamanuel, Y., Asrat, D., Debela, A. (2015): Effect of *Cymbopogon martinii*, *Foeniculum vulgare*, and *Trachyspermum ammi* essential oils on the growth and mycotoxin production by *Aspergillus* species. *International Journal of Food Science* <https://doi.org/10.1155/2014/874135>
https://www.researchgate.net/publication/275063686_Effect_of_Cymbopogon_martinii_Foeniculum_vulgare_and_Trachyspermum_ammii_Essential_Oils_on_the_Growth_and_Mycotoxins_Production_by_Aspergillus_Species
- Nguyen, T. C., Hoang, T. T., Nguyen, H. H. (2025): Evaluation of Anti-*Aspergillus flavus* activity of lactic acid bacteria isolated from Vietnamese fermented cocoa beans. *Microorganisms*, 16(6):111 <https://doi.org/10.3390/microbiolres16060111>
<https://www.mdpi.com/2036-7481/16/6/111>

NNK (Nemzeti Népegészségügyi Központ) (n.d.) A penészgombák és a mikotoxinok <https://www.nnk.gov.hu/index.php/nnk-projektek/human-biomonitoring/a-peneszgombak-es-a-mikotoxinok.html>

Ntungwe E.N., Tchana A.N., Abia W.A. (2024) Mycotoxin management: exploring natural solutions for mycotoxin prevention and detoxification in food and feed *Mycotoxin Research*, 40 (4), pp. 519 - 534, DOI: 10.1007/s12550-024-00562-1 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39271576>

Omburo, B. (2025): Functional Characterization of the hdt5 Gene in *Aspergillus flavus* Morphogenesis and Mycotoxin Production. *PhD Dissertation*. <https://www.proquest.com/openview/17004422ce6f6e78740b04380bbb98c4/1>

Paramithiotis, S. (2025) *Lactiplantibacillus plantarum*, the Integral Member of Vegetable Fermentations, 4(1):7 <https://doi.org/10.3390/applbiosci4010007> <https://www.mdpi.com/2813-0464/4/1/7>

Peraica, M., Radić, B., Lucić, A., Pavlović, M. (1999): Toxic effects of mycotoxins in humans. *Croatian Medical Journal* <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2557730>

Pitt, J. I., Hocking, A.D. (1985-2022) *Fungi and Food Spoilage* Springer https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKewjhtPGI_tWQAxXI2AIHHe44OOkQFnoECBQQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2Fprofile%2FAtef_Hassan4%2Fpost%2FCan_you_identify_this_fungal_growth_Fungi_F%2Fattachment%2F59d6220279197b80779805e0%2FAS%253A299455162142722%25401448407082568%2Fdownload%2FFungi_and_Food_Spoilage_3rd_Edition_0387922067.pdf&usq=AOvVaw2Yzimz6UTs1nsGtKWjb9qw&opi=89978449

Pouris, J., Kolyva, F., Bratakou, S., Vogiatzi, C. A., Chaniotis, D., Beloukas, A. (2024): The Role of Fungi in Food Production and Processing. *Applied Sciences*, 14(12):5046 <https://doi.org/10.3390/app14125046> <https://www.mdpi.com/2076-3417/14/12/5046>

Purnawita, W., Rahayu, W. P., Lioe, H. N., Nurjanah, S., Wahyudi, S. T. (2024): Potential molecular mechanism of reuterin on the inhibition of *Aspergillus flavus* conidial germination: An in silico study. *Journal of Molecular Modeling*. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16904> <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38193164>

Shetty P.H., Jespersen L. (2006) *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents *Trends in Food Science and Technology*, 17 (2), pp. 48 - 55, DOI: 10.1016/j.tifs.2005.10.004 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224405002499>

- Simões, L., Fernandes, N., Teixeira, J., Abrunhosa, L., Dias, D. R. (2023): Brazilian Table Olives: A Source of Lactic Acid Bacteria with Antimycotoxigenic and Antifungal Activity. *Toxins*, 15(1):71 <https://doi.org/10.3390/toxins15010071> <https://www.mdpi.com/2072-6651/15/1/71>
- Turner, N. W., Subrahmanyam, S., Piletsky, S. A. (2009): Analytical methods for determination of mycotoxins: a review. *Analytica Chimica Acta*. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.11.010> <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19110091>
- Urugo M.M., Teka T.A., Berihune R.A., Teferi S.L., Garbaba C.A., Adebo J.A., Woldemariam H.W., Astatkie T. (2023) Novel non-thermal food processing techniques and their mechanism of action in mycotoxins decontamination of foods *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 85, art. no. 103312, DOI: 10.1016/j.ifset.2023.103312 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1466856423000462>
- Wei Y.-K., Zhao X.-M., Li M.-M., Yu J.-X., Gurudeeban S., Hu Y.-F., Ji G.-F., Wei D.-Q. (2018) Detoxification of aflatoxins on prospective approach: effect on structural, mechanical, and optical properties under pressures. *Interdisciplinary Sciences – Computational Life Sciences*, Springer 10 (2), 311 - 319, DOI: 10.1007/s12539-017-0278-8 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29282626>
- Zain, M. E. (2011). Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi Chemical Society*, <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2010.06.006> <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319610310000827>
- Zapaśnik, A., Sokołowska, A., Bryła, M. (2022): Role of Lactic Acid Bacteria in Food Preservation and Safety. *Foods*, 11(9):1283. doi: 10.3390/foods11091283. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9099756>
- Zentai, A., Józwiak, Á., Süth, M., Farkas, Zs.(2023): Carry-Over of Aflatoxin B1 from Feed to Cow Milk—A Review. *Toxins*, 15, 195. <https://doi.org/10.3390/toxins15030195> <https://www.mdpi.com/2072-6651/15/3/195>

8. Táblázatok és ábrák jegyzéke

1. ábra Mikotoxinok és származékaik	8
2. ábra Az aflatoxinok metabolizációja (K. A. Abdallah, R. A. H. R. J. Al-Anany és M. A. El-Salam (2021))	10
3. ábra A maszkolt mikotoxinok kialakulása	11
4. ábra A különböző aflatoxinok szerkezete	13
5. ábra aflatoxin B1 metabolizmusa	13
6. ábra Penészgombák kimutatására alkalmas módszerek	17
7. ábra ELISA módszer és az AflaCheck/DONCheck gyorseszteszt mérések menete	18
8. ábra Kromatográfiás detektálás – HPLC	19
9. ábra Kétrétegű agar módszerrel végzett gátlási kísérlet eredményei - Kontroll/fehér izolált mikroba	32
10. ábra Kétrétegű agar módszerrel végzett gátlási kísérlet eredményei - Reuteri	32
11. ábra Kétrétegű agar módszerrel végzett gátlási kísérlet eredményei - Shirota	32
12. ábra Kétrétegű agar módszerrel végzett gátlási kísérlet eredményei - BEBA	32
13. ábra Kétrétegű agar módszerrel végzett gátlási kísérlet eredményei - Casei 01	32
14. ábra Kétrétegű agar módszerrel végzett gátlási kísérlet eredményei - GG	32
15. ábra Kétrétegű agar módszerrel végzett gátlási kísérlet eredményei - LA-5	32
16. ábra Penészgomba növekedésének változása cseppentéses vizsgálat alapján	33
17. ábra Az <i>A. flavus</i> Zt41 telepnövekedési kinetikája a probiotikus baktériumok hatására	35
18. ábra A milliliterenkénti spóraszám változása a különböző tejsavbaktériumok esetében ...	36
19. ábra A sarjadzás követése 72 órán keresztül	37
20-23. ábra Baktériumok hatása a spóra-sarjadzásra - Kontroll	38
24-26. ábra Baktériumok hatása a spóra-sarjadzásra - BEBA	38
27-29. ábra Baktériumok hatása a spóra-sarjadzásra - Casei 01	38
30-32. ábra Baktériumok hatása a spóra-sarjadzásra - GG	39
33-35. ábra Baktériumok hatása a spóra-sarjadzásra - Reuteri	39
36-38. ábra Baktériumok hatása a spóra-sarjadzásra - Shirota	39
39-41. ábra Baktériumok hatása a spóra-sarjadzásra - LA-5	39
42. ábra A kenyérmintáról lemosott milliliterenkénti spóraszám változása a különböző tejsavbaktériumok esetében	40
43. ábra 1 gramm kenyéren megjelenő telepképző egység száma	41
44. ábra A telepképződés gátlása százalékosan megjelenítve	41

45. ábra Kenyerminták penészszámaának átlaga és egyedi értékei	42
46. ábra Kenyerminták penészszámaának egyutas ANOVA összehasonlítása	42
47. ábra Kenyerminták penészszámaának Tukey post hoc tesztjének részlete	43
48. ábra Kenyerminták spóraszámának boxplot diagramja	44
49. ábra Kenyerminták spóraszámának egyutas ANOVA összehasonlítása	44
50. ábra Kenyerminták spóraszámának Tukey post hoc tesztjének részlete	45
51. ábra Aflatoxin B1 kalibrációs egyenes	45
52. ábra Az átlag toxin mennyisége $\mu\text{g}/10\text{ ml}$ -re számítva különböző tejsavbaktériumok esetében agarra cseppentéses módszer esetén	46
53-56. ábra A különböző baktérium:spóra koncentrációban végzett kísérletek során termelődött aflatoxin B1 átlag mennyisége $\mu\text{g}/10\text{ ml}$ -mosóoldatra számolva	47
57. ábra Átlag aflatoxin B1 toxin mennyisége 1g kenyér mintán	48
1. táblázat <i>Élelmiszerekben előforduló egyes szennyező anyagok felső határértékei</i> Az EU-ban hatályos megengedett aflatoxin koncentráció egyes élelmiszerekben.	15
2. táblázat A probiotikus baktériumok penész.növekedés gátlási eredményei	31
3. táblázat A probiotikus baktériumaink gátlási eredményei különböző koncentrációkon	34

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom

Dr. Zalán Zsolt és Horváthné Dr. Szanics Enikő

konzulensi tevékenységeikért, hasznos szakmai javaslataikért és iránymutatásaikért,

valamint,

az

Élelmiszerkémia és Analitika Tanszék dolgozóinak

a mérések kivitelezésében nyújtott segítségükért

és a

Biomérnök és Erjedéssipari Technológiai Tanszék dolgozóinak

a mérések kivitelezésében nyújtott segítségükért

NYILATKOZAT

a szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve: Patak Bálint Ferenc
A Hallgató Neptun kódja: WKXPZS
A dolgozat címe: Aflatoxin termelő penészek szaporodásának és toxintermelésének gátlása probiotikus tejsavbaktériumokkal
A megjelenés éve: 2025

A konzulens intézetének neve: Biomérnök és Erjedésipar Technológia Tanszék

A konzulens tanszékének a neve: Biomérnök és Erjedésipar Technológia Tanszék

Kijelentem, hogy az általam benyújtott szakdolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem. Továbbá kijelentem, hogy a dolgozat elkészítése során alkalmazott mesterséges intelligencia-eszközök (pl. szöveggenerálás, nyelvi javítás, fordítás, adatelemzés) használata nem helyettesítette a saját kutatási és alkotói munkámat, azok alkalmazását a források között vagy a módszertani részben feltüntettem, és a szakmai-etikai elvárásoknak megfelelően jártam el.

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

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

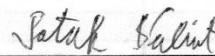
Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkor szellemi tulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

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

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelte után

nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: 2025. év 11. hó 03. nap



Hallgató aláírása

Hallgatók, doktoranduszok nyilatkozata mesterséges intelligencia (MI) alkalmazásáról

1. Általános adatok

Hallgató neve:	Patak Bálint Ferenc
Neptun-kódja:	WKXPZS
Képzési szint (a megfelelőt jelölje X-szel):	<input checked="" type="checkbox"/> BSc/BA <input type="checkbox"/> MSc/MA <input type="checkbox"/> Doktori (PhD) <input type="checkbox"/> Egyéb:
Tantárgy neve/kódja*:	SZAKDOLGOZAT ÍRÁS 2.
A munka címe:	Aflatoxin termelő penészek szaporodásának és toxintermelésének gátlása probiotikus tejsavbaktériumokkal - szakdolgozat

* doktori értekezés esetén nem kitöltendő

2. Nyilatkozat az MI használatáról

Alulírott, etikai felelősségem teljes tudatában az alábbi nyilatkozatot teszem:

(Kérjük, válasszon egyet az alábbi lehetőségek közül!)

A) Nem alkalmaztam mesterséges intelligencia rendszert vagy szolgáltatást.

(Amennyiben ezt jelölte, a további táblázatok kitöltése nem szükséges.)

B) Alkalmaztam mesterséges intelligencia rendszert vagy szolgáltatást.

(Kérjük, tölts ki a vonatkozó táblázatokat!)

3. A mesterséges intelligencia használatának részletezése

I. TÁBLÁZAT: Asszisztensi vagy kisebb mértékű felhasználás (pl. fordítás, nyelvi korrekció, ötletelés stb.)

(Ezen felhasználások esetében a konkrét promptok és válaszok csatolása nem szükséges.)

A felhasználás célja	Alkalmazott MI-eszköz neve és verziója	Érintett rész (ha nem a szöveg egészére vonatkozik)
Szakirodalmi fordítás		

II. TÁBLÁZAT: Jelentős tartalmi hozzájárulás (pl. egy teljes ábra vagy egy hosszabb szövegrész generálása)

(Ezekben az esetekben a felhasznált kulcsfontosságú promptok és az MI által adott nyers válaszok dokumentálása és a munka mellékletében való csatolása szükséges.)

A felhasználás célja	Alkalmazott eszköz verziója, elérhetősége	MI-neve,	Az érintett fejezet / ábra / táblázat pontos sorszáma	A prompt-naplót tartalmazó melléklet bejegyzésének sorszáma

3/A. Oktató által előírt kiegészítő szabályok (ha vannak)

Amennyiben az adott tantárgy oktatója vagy témavezetője az MI-eszközök használatára vonatkozóan külön szabályokat vagy elvárásokat határozott meg, kérjük, az alábbi mezőben foglalja össze ezeket:

Pl. az MI használatának tilalma bizonyos feladattípusokra; csak konkrét eszköz használata engedélyezett; eltérő hivatkozási elvárások; dokumentációs forma stb.

Oktató vagy témavezető által előírt szabályok:

.....

.....

.....

.....

4. Minden hallgatóra vonatkozó nyilatkozat:

Kijelentem, hogy az MI által esetlegesen generált tartalmakat minden esetben kritikailag felülvizsgáltam, szerkesztettem és a munkába illesztettem. A leadott munka minden eleméért, annak eredetiségéért és tudományos helytállóságáért teljes körű felelősséget vállalok. Tudomásul veszem, hogy a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem a benyújtott munkát mesterséges intelligencia detektorral ellenőrizheti, és eljárást kezdeményezhet, amennyiben a nyilatkozatom valótlan vagy hiányos.

Kelt: Biatorbágy, 2025. 11. hó 03. nap

Batal Bálint

Hallgató aláírása

Dr. Szűcs Csaba

Konzulens/Témavezető aláírása

NYILATKOZAT

Patak Bálint Ferenc (név) (hallgató Neptun azonosítója: WKXPZS) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a szakdolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

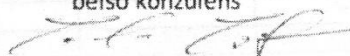
A záródolgozatot/szakdolgozatot/diplomadolgozatot/portfóliót a záróvizsgán történő védésre javaslom / nem javaslom¹.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem²

Kelt: Budapest, 2025. év November hó 10. nap

Uő Kovács László

belső konzulens



¹ A megfelelő alá húzandó.

² A megfelelő alá húzandó.