

DIPLOMADOLGOZAT

Balázs Krisztina

2024



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Budai Campus
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
élelmiszerbiztonsági- és minőségi mérnöki mesterképzési
szak

ÉLESZTŐGOMBÁK HATÁSA PATULIN TERMELŐ
***ASPERGILLUS CLAVATUS* SZAPORODÁSÁRA**

Belső konzulens: Dr. Csernus Olívia
egyetemi adjunktus

Külső konzulens: Batáné Dr. Vidács Ildikó
tudományos főmunkatárs

Belső konzulens
intézete/tanszéke: MATE Budai Campus
Élelmiszertudományi és
Technológiai Intézet,
Biomérnök és Erjedéssipari
Technológia Tanszék

Készítette: **Balázs Krisztina**

Budapest

2024

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzések.....	4
2. Szakirodalmi áttekintés	6
2.1. A gyümölcs-zöldségfogyasztás táplálkozási és gazdasági aspektusai	6
2.2. Mikrobiális romlás.....	6
2.3. A penészgombák főbb tulajdonságai	7
2.4. Romlást okozó penészgombák	8
2.5. <i>Aspergillus clavatus</i> bemutatása.....	8
2.6. <i>Aspergillus clavatus</i> növekedési tulajdonságainak összehasonlítása Czapek-Dox agaron és maláta agaron	9
2.7. A mikotoxinok főbb tulajdonságai	9
2.8. Patulin.....	11
2.9. A gyümölcsök és a zöldségek mikrobiológiai romlását megelőző módszerek	12
2.10. Mikotoxinmentesítésre irányuló módszerek.....	13
2.11. Növényvédőszerrel kapcsolatos aggodalmak.....	14
2.12. Biokontroll módszerek	14
2.13. Élesztőgombák főbb tulajdonságai	16
2.14. Az élesztőgombák és a penészgombák közötti antagonista hatások jellemzése és alkalmazása a biológiai védekezésben	16
2.15. Az antagonista élesztők fogalma, kritériumai és kiválasztása.....	18
2.16. Az antagonista élesztők alkalmazásának korlátai.....	19
3. Anyagok és módszerek.....	21
4. Eredmények és értékelésük	25
5. Következtetések és javaslatok.....	31
6. Összefoglalás.....	33
Irodalomjegyzék.....	35
Táblázatok és ábrák jegyzéke.....	39
Nyilatkozatok	41

1. Bevezetés és célkitűzések

A zöldségek és a gyümölcsök kedvező táplálkozás-élettani szerepe jelentős. A jelenlegi táplálkozási ajánlások szerint napi étrendünk felét gyümölcsöknek és zöldségeknek kellene alkotniuk ([http7](#)), azaz naponta kb. 400 gramm zöldség-gyümölcs elfogyasztására lenne szükség ([http8](#)). A kertészeti termelés kiemelkedő szerepet tölt be Európában, ideértve Magyarország mezőgazdaságát is (Szűcs, 2011). Azonban a gyümölcsök és a zöldségek tárolása során különböző okokból kifolyólag számottevő veszteségek adódhatnak, ilyenek például a párologtatásból adódó, illetve a nem mikrobiális és mikrobiális eredetű veszteségek, ez utóbbi például penészgombák általi fertőződés eredményeképpen (Brückner, 2005). A penészgombák élelmiszerben való elszaporodása gazdasági szempontból óriási veszteséget képes okozni mind a termelők, a kereskedők és a fogyasztók számára (Sohár, 2007). A penészgombák bizonyos körülmények között másodlagos anyagcseretermékek, úgy nevezett mikotoxinok termelésére is képesek, amelyek a szervezetbe jutva potenciálisan egészségkárosító hatással rendelkeznek mind a humán, mind az állati szervezetet tekintve (Banáti és Tóth, 2023). A legveszélyesebb mikotoxinokhoz sorolható patulin, (Sohár, 2007) megtalálható almában, almalében és más gyümölcslevegekben, valamint zöldségekben, (Varga és munkatársai, 2014) gabonafélékben és takarmányokban is. A patulint számos penészgomba nemzetség termeli, ilyenek például az *Aspergillus*, *Penicillium* vagy *Byssoschlamys* fajok. A szervezetben nem akkumulálódik, azonban megnöveli a hajszálerek permeabilitását, ezáltal ödémákat, bevérzéseket okoz, továbbá az RNS és a DNS polimeráz enzimeket is gátolja. Mutagén és rákkeltő hatását eddig nem sikerült bizonyítani. Nagyobb dózisok esetén immunszuppresszív hatású (Sohár, 2007). Az élelmiszerekben előforduló patulin maximális mennyiségére vonatkozóan felső határértékek vannak meghatározva. A téma aktualitását mutatja, hogy az Európai Unió élelmiszer- és takarmánybiztonsági riasztási rendszere (Rapid Alert System for Food and Feed, RASFF) az elmúlt 3 évben 14 esetben talált nem megfelelőséget az élelmiszerek patulin tartalmával kapcsolatban, melynek nagy része almát tartalmazó termék volt ([http11](#)). 2024-ben a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal 3 alkalommal hívott vissza gyümölcs alapú italt és gyümölcs készítményt az élelmiszerboltok polcairól ugyan ezen okok miatt ([http12](#)). A gyümölcsök és a zöldségek mikrobiológiai romlásának megelőzésére a leghatékonyabb eszközök a jó mezőgazdasági gyakorlatok (NÉBIH, 2013). A mikrobiológiai romlást megelőző módszerek között megemlítendő a rezisztencia nemesítés, illetve a fungicid kezelések is. A betakarítás során fontos a növények épisége és a sérülések, ütődések megakadályozása, míg a tárolás során többféle módszer

alkalmazhatnak a romlás elkerülésére, mint például hűtőtárolás, vagy a módosított légterű tárolás (Brückner, 2005). A fungicid kezelésekkel kapcsolatos egészségi és környezeti aggályok azonban a szigorú szabályozás ellenére is jelentősek. Az Európai Unió élelmiszer- és takarmánybiztonsági riasztási rendszere 2020-tól kezdődően összesen 683 esetben hívta fel a figyelmet esetlegesen veszélyt jelentő problémára különböző élelmiszerek esetén a növényvédő-szerekkel kapcsolatban ([http14](http://14)). Az élelmiszerbiztonsággal kapcsolatos félelmek terén az Európai Unió 2022-es „a tudatosság, a kockázatészlelés és a viselkedés megértése” című kutatása alapján az európai lakosság összességét tekintve az élelmiszerekben lévő növényvédőszer maradványok aggasztják a leginkább az embereket az élelmiszerbiztonsággal kapcsolatos kockázatok közül, míg a magyar lakosság körében a peszticiddel kapcsolatos félelmek a második helyen szerepelnek, az adalékanyagok után (EFSA, 2022). Ezen okokból kifolyólag a természetesebb, biokontroll módszerekkel kapcsolatos kutatások is megkezdődtek köztük a fitopatogénekre nézve antagonista hatással rendelkező élesztőgombák, vagy baktériumok használatában rejlő lehetőségekkel kapcsolatos vizsgálatok is.

Diplomadolgozatomban bemutatott kutatásunk során célunk volt, hogy tanulmányozzuk a rendelkezésre álló, sertések féceszmintáiból izolált élesztőgomba törzsek esetleges antagonista hatását almából izolált, kimutathatóan patulin termeléséért felelős génszakasszal rendelkező *Aspergillus clavatus* penészgomba törzsekkel szemben. Ezáltal egyfajta előszűrést végezzünk, hogy melyek azok az élesztőgomba törzsek, amelyek további vizsgálatra alkalmasak lehetnek patulintermelő penészgombák visszaszorítására.

2. Szakirodalmi áttekintés

2.1. A gyümölcs-zöldségfogyasztás táplálkozási és gazdasági aspektusai

A zöldségek és a gyümölcsök kedvező táplálkozás-élettani szerepe régóta ismert. A jelenlegi táplálkozási ajánlások szerint napi étrendünk felét gyümölcsöknek és zöldségeknek kellene alkotniuk ([http7](#)), azaz naponta kb. 400 gramm zöldség-gyümölcs elfogyasztására lenne szükség ([http8](#)). Az Országos Táplálkozási és Tápláltsági állapot Vizsgálat 2019-es eredményei szerint a magyar lakosság fogyasztása 339 grammra tehető naponta (OGYEI, 2019).

A kertészeti termelés kiemelkedő szerepet tölt be Európában, ideértve Magyarországot is. Az európai országok kiemelkednek az alma, valamint a csonthéjas gyümölcsök termesztésében. Európa adja a világ összes termelésének kb. 13-15%-át, számokban kifejezve zöldségtermelése 100 millió tonna, gyümölcsstermelése pedig 80 millió tonna körülre tehető. Bár az elmúlt évtizedben a termelés jelentősen visszaesett, Magyarországon az alma a gyümölcsstermesztés legjelentősebb ágazata, az összes gyümölcsstermesztés mintegy 60%-át adja. Az alma 70-80%-a léüzemekbe kerül (Szűcs, 2011). A Központi Statisztikai Hivatal eredményei szerint a Magyarországon 2019-ben betakarított mennyiség 543 ezer tonna, a magyar lakosság egy főre jutó almafogyasztása 12,5 kg volt ([http9](#)).

A gyümölcsök és a zöldségek tárolása során különböző okokból veszteségek adódhatnak. Mivel a zöldségek és a gyümölcsök a betakarítás után is élő szövetnek tekinthetők a veszteségek jelentős hányadát adja a párologtatásból és légzésből adódó tömegvesztés. Ezen kívül további problémát okoznak a mikrobiális (például penészgomba) és nem-mikrobiális eredetű veszteségek (például fagykár, héj/hús barnulás) (Brückner, 2005). A Központi Statisztikai Hivatal 2022-es évre vonatkozó adatai szerint a betakarított összes almatermesztés 350.097 tonna volt, amelyből a tárolási veszteség 699 tonna volt ([http10](#)). Egyes felmérések szerint a fejlett országokban a teljes gyümölcsstermelés kb. 25%-a megy kárba a betakarítás után, míg a fejlődő országokban a korszerűtlen posztharvest technológiák miatt ez a szám 50%-ra is tehető (Zhang és munkatársai, 2020).

2.2. Mikrobiális romlás

A zöldségek és a gyümölcsök mikrobiális romlásának kialakulását a kórokozó virulencia faktorai és a növényi szövet védekező mechanizmusa közötti kölcsönhatások határozzák meg. A legtöbb mikroorganizmus sebezhető vagy nyitott csatornán pl. légzőnyíláson tud behatolni a növényi szövetbe. A mikrobák közé tartoznak a penészgombák, élesztőgombák és a

baktériumok. A gyümölcsökön főként élesztőgombák és penészgombák fordulnak elő (Brückner, 2005).

2.3. A penészgombák főbb tulajdonságai

A penészgombák mikroszkopikus gombatelepeket alkotnak, amelyek elágazó fonalakból, úgynevezett hifákból állnak, ezen élő sejtfonalak szövődését, bonyolult hálózatát micéliumnak nevezzük. A hifa fonalak felépítése által megkülönböztethetőek az egyes gombák csoportjai. Az ősbibb szerveződésű járomspórás gombák esetén (Zygomyceta) a gombatelepek egyetlen sokmagvú óriássejtből épülnek fel, míg a fejlettebb tömlősgombáknál (Ascomyceta) a fonalak között válaszfalak figyelhetőek meg (György, 2021).

A penészgombák általában aerob, heterotróf szervezetek (György, 2021). Ivarosan és ivartalanul is szaporodhatnak (Figler, 2015). A spóráképződést környezeti tényezők idézik elő, mint például a tápanyagforrás kimerülése. Ilyen túlélést szolgáló vegetatív szaporító képlet a fonalas gombák esetében a blastospóra és a konídiospóra. A penészgombák általában kis vízigényűek, a közepesen savas pH-t kedvelik, viszont szaporodásuk pH-tartománya széles. A hőmérsékleti igényüket tekintve a penészgombák közt leginkább mezofil (György, 2021) és psichrotrof fajok találhatóak, illetve kevés termotrof faj is előfordul (Figler, 2015).

A gombák tápanyagforrásainak tekinthetjük mindazt, amit a környezetből közvetlenül, vagy közvetett módon (bontási folyamataik eredményeképpen) hasznosítani tudnak. A tápanyagok csoportosítása a közvetkező: szénforrások, nitrogénforrások, vitaminok és más növekedési, ásványi elemek (Jakucs és Varga, 2003). A gombák legfőbb energiaforrásai közé tartoznak a monoszacharidok, leggyakrabban a glükóz és a fruktóz, valamint az oligoszacharidok közül a trechalóz. A gombasejtekből a poliszacharidok közül a keményítő (spórák falában) és a glikogén (citoplazmában) kimutathatóan jelen van. A penészgombák fő vázanyagát adja a nitrogéntartalmú kitin, továbbá a gomba sejtmembránjának fontos lipid alkotója az ergosterol is megemlíthető. A penészgombákban legnagyobb mennyiségben víz található, számos ásványi anyag nélkülözhetetlen az életműködéséhez, úgy, mint kálium, kalcium, magnézium, vagy a foszfor (Csernus, 2014).

Nagy szerepük van az ökológiai rendszerben, hiszen lebontják az élővilág szerves anyagait azáltal, hogy a hifák átszövik, majd a kibocsátott enzimekkel monomerekre bontják, ezt követően pedig abszorbeálják és hasznosítják azokat. Az élelmiszeriparban számos penészgombafajt hasznosítanak például hús- vagy tejtermékek készítéséhez, ezen kívül a gyógyszeripar is előszeretettel alkalmazza többek között antibiotikumok, enzimek előállítására.

Az előnyös tulajdonságaik és felhasználási lehetőségeik mellett azonban potenciálisan egészségkárosító hatásuk a humán és az állati szervezetre nézve régóta ismert, valamint az élelmiszerben lévő penészgombák elszaporodása gazdasági szempontból is óriási veszteségeket képes okozni mind a termelők, a kereskedők és a fogyasztók számára, hiszen a jelenlétük csökkenti az élelmiszerek tápértékét, illetve rontja érzékszervi tulajdonságaikat (Sohár, 2007).

2.4. Romlást okozó penészgombák

A zöldségek és a gyümölcsök penészgombával való megfertőződése az élelmiszerlánc különböző szakaszain megtörténhet: a termesztés, betakarítás, szállítás, tárolás és a feldolgozás során is. A szennyeződés forrása lehet: konídium, micélium darabka és szklerócium. A termesztés során a penészgombák általában a szél, illetve az eső segítségével kerülnek az egyedekre a talajból vagy fertőzött növényi részekről, míg a tárolás során a fertőzött és egészséges egyedek közvetlen érintkezése, a hűtőtárolóban keringtetett levegő, esetleg mosóvíz által történhet meg a fertőződés (Brückner, 2005). A penészgombák általában minden szerves tápanyagon jól szaporodnak, de vannak fajok, amelyek bizonyos élelmiszerekre jellemzőek, így például a zöldség- és gyümölcsök jellegzetes romlási folyamatait olyan parazita vagy szaprobionta fajok okozzák, amelyek a pektin, cellulóz és fehérjebontásra képesek. Legjellemzőbb fajok közé tartoznak a *Penicillium*ok és *Aspergillus*ok (György, 2021).

2.5. *Aspergillus clavatus* bemutatása

Az *Aspergillus clavatus* faj az *Aspergillus* nemzetségbe, azon belül a *Clavati* szekcióba tartozik, amely az *A. clavatus*on kívül még 5 fajt foglal magában (*A. giganteus*, *A. rhizopodus*, *A. longivesica*, *Neocarpenteles acanthosporus* és *A. clavatonanicus*). Az *Aspergillus clavatus* a szakirodalomban *A. apicalis* és *A. pallidus*ként is emlegetik (Varga és munkatársai, 2007).

A fajok közös tulajdonsága, hogy sav- és lúgtűrőek (Varga és munkatársai, 2007). Az *Aspergillus clavatus* hőmérsékleti optimuma 25 °C körüli, minimum 5-6 °C-on, maximum pedig 42 °C közelében növekszik. A növekedéshez minimum 0,88-0,87 közötti vízáktivitási értékre van szüksége (http1).

Az *A. clavatus* számos mikotoxint termelhet, ilyen például a patulin, citokalazin, triptokvinalin és a triptokvinalon. Gustav Bergel német mikrobiológus volt, aki megállapította először 1943-ban, hogy az *A. clavatus* patulint termel (Varga és munkatársai, 2007).

Az *A. clavatus* főként talajban, nedves környezetben fordul elő, így megjelenhet helytelenül tárolt gabonafélékben, például rizs, köles, kukorica (Varga és munkatársai, 2007). Jelen lehet az árpamalátázás folyamata során is (http1). Az *A. clavatus* felelős lehet az úgy nevezett „maláta

munkások” tüdőbetegségéért, valamint a fertőzött takarmánnyal etetett állatok mikotoxikózisáért. Telepeik kékes zöldesszürkés színűek, konídiumaik úgynevezett konidiofórokon termelődnek. A konidiofórok sima falúak, színtelenek és akár a 3 mm-t is elérhetik. A konídiumok csúcsa vastagabb a tövüknél (Varga és munkatársai, 2007).

2.6. *Aspergillus clavatus* növekedési tulajdonságainak összehasonlítása Czapek-Dox agaron és maláta agaron

Az *Aspergillus clavatus* növekedésének vizsgálata Czapek-Dox agaron és maláta agaron is lehetséges, azonban a táptalaj eltérő összetétele befolyásolhatja a penészgomba növekedési és morfológiai tulajdonságait. Czapek-Dox agaron a telepek szagtalanok, míg maláta agar használata esetén erős kellemetlen szagot árasztanak, továbbá a konidiofórok nagyobbak bizonyulnak Czapek-Dox agaron, illetve maláta agaron összességében kevesebb konídium szerkezet jön létre ([http2](#)).

2.7. A mikotoxinok főbb tulajdonságai

A mikotoxinok a penészgombák által termelt másodlagos anyagcsere termékek, természetes mérgeanyagok, amelyek termelődéséhez speciális körülmények szükségesek, úgy, mint megfelelő páratartalom, hőmérséklet, szubsztrátum és oxigén. Fontos kiemelni, hogy a penészgombák nem minden esetben termelnek mikotoxint, azonban az is igaz, hogy egy penészgomba faj többféle mikotoxin előállítására is képes, azaz egy-egy élelmiszerből egyszerre akár több mikotoxin is kimutatható. A különböző mikotoxinok szinergikus hatásúak lehetnek egymásra, azaz többféle mikotoxin egyidejű jelenléte esetén toxicitásuk fokozódhat. A mikotoxinokkal kapcsolatos kutatások az 1960-as évek elején Angliában kezdődtek, a tömeges pulykacsibe elhullás okainak tisztázása érdekében. Ekkor került sor az aflatoxin nevű vegyület kémiai szerkezetének meghatározására, illetve eredetének és egészségügyi veszélyeinek felfedezésére (Sohár, 2007). Azonban már jóval korábban a mezőgazdaság ugrásszerű fejlődésekor megmutatkozott a mikotoxinokkal kapcsolatos élelmiszerbiztonsági probléma. Ebben az időben kevesebb ideig fogyasztottak anyatejet, helyette gyakran kaptak gabonafélékből készített kását, ezért a penészgombák által termelt mikotoxinok nagyrészt a gyermekek körében okoztak megbetegedést és halálozást (Banáti és Tóth, 2023). A gyermekek sokkal érzékenyebbek a környezeti veszélyekre, beleértve a kémiai kockázatokat is, hiszen folyamatos fejlődésben-növekedésben vannak és testtömegükhöz viszonyítva sokkal több ételt és italt fogyasztanak el, mint a felnőttek ([http3](#)). A mikotoxinok már a középkorban is számos tömeges megbetegedést okoztak, legismertebb az ergot alkaloidok által okozott ergotizmus,

más néven „Szent Antal tüze”, amely a mikotoxinnal szennyezett rozs elfogyasztásának következtében kialakuló súlyos mérgezés (Diána és Tóth, 2023).

Napjainkban eddig 400 mikotoxinnál is többet ismerünk, ezek közül kevesebb, mint 20 rendelkezik jelentős egészségügyi hatással az állati vagy a humán szervezetet tekintve (B. Tóth, 2014). A 2007-es Élelmiszervizsgálati Közlemény „mikotoxinok az élelmiszerláncban” című publikációja szerint az ember számára legveszélyesebb mikotoxinok közé sorolandóak az aflatoxinok, az ochratoxinok, a fusarium toxinok (zearalenon, fumonizinek, trichotecének), valamint a patulin (Sohár, 2007). A mikotoxinok akut, szubakut és krónikus tüneteket is kiválthatnak. A legveszélyesebb vegyületek egészségre gyakorolt hatását az 1. táblázatban tüntettem fel.

1. táblázat: Mikotoxinok egészségre kifejtett hatásai

(Forrás: Saját szerkesztés [http4](http://4) és Omotayo és munkatársai, 2019 alapján)

Mikotoxin	Egészségre kifejtett hatás
aflatoxinok	karcinogén, hepatotoxicitás, immunszuppresszív
ochratoxin A	karcinogén, genotoxikus, immunszuppresszív, nefrotoxikus és felső húgyúti megbetegedéseket indukáló hatású
fumonizinek	karcinogén, hepatotoxikus, nefrotoxikus, immunszuppresszív
deoxinivalenol	hányinger, hányás, hasmenés, reprodukciós toxicitás
zearalenon	karcinogén, negatív hatás a hormonális rendszerre és a reprodukciós funkcióra
patulin	neurológiai és a gasztrointesztinális hatások

Általánosságban elmondható, hogy a mikotoxinok nagyon stabil vegyületek, hagyományos ételkészítési eljárásokkal nem eltávolíthatóak, valamint a hővel és a kémiai anyagok egy

részével szemben is ellenállónak bizonyulnak (Tóth, 2014). Mindezek következtében a mikotoxinok megjelenésének megelőzésével, csökkentésével, előfordulási gyakoriságával, egészségre gyakorolt hatásával kapcsolatos kutatások ma is egyre nagyobb figyelmet kapnak az egész világon (Sohár, 2007).

2.8 Patulin

A patulint számos penészgomba nemzetség termeli, ilyenek például az *Aspergillus*, *Penicillium* (főként *Penicillium expansum*) és *Byssochlamys* fajok. Kémiaiilag telítetlen öttagú laktonvegyület. Antibiotikus hatása is van, de jelentős toxicitása miatt mikotoxinnak tekintjük (Sohár, 2007). Jellemzője, hogy savas közegben stabil, azonban lúg jelenlétében gyorsan lebomlik (Varga és munkatársai, 2014). Fontos továbbá, hogy hőközléssel nem eltávolítható, mivel magas hőmérsékleten is stabil vegyület (Omotayo és munkatársai, 2019).

Az Európai Unió Bizottságának 2003-as „patulin szennyezés kialakulásának megelőzése és csökkentése almalé és almalé tartalmú üdítőkben” című ajánlása szerint a gyümölcslevek alkoholos erjesztése elpusztítja a patulint, így az almabor és az almapálinka általában nem tartalmazza a vegyületet, kivétel olyan esetekben, ahol az almalevet később, már az erjesztés után adják hozzá a termékhez. Az aszkorbinsav is csökkentheti az élelmiszerek patulin tartalmát bizonyos körülmények között, azonban a pontos paramétereket még nem sikerült megállapítani. Az ajánlás arról is beszámol, hogy 150 °C feletti hőkezelés a vegyület mennyiségét 20%-kal csökkentette a termékben, azonban a teljes mennyiség eltávolítása nem lehetséges az említett módszerrel ([http5](#)).

A patulin gyakran megtalálható az almán, almalében és más gyümölcslevekben, valamint zöldségekben (Varga és munkatársai, 2014), gabonafélékben és takarmányokban is. A patulin szennyezettség mértéke összefügg a romlás fokával, egyes források szerint jellemzője, hogy nem terjed át a romlott szövetből távolabbi részekbe (Sohár, 2007), azonban más források szerint a patulin egy része áttérjedhet látszólag egészséges gyümölcsszövetekbe is ([http5](#)), így tehát látszólag egészséges gyümölcsökben sem zárható ki a patulin előfordulása (Sohár, 2007). A penészgombák spórái már az almafa gyümölcsén jelen lehetnek, ezért a betakarítás és a betakarítást követő szállítási, tárolási, feldolgozási szakaszok is kulcsfontosságúak ([http5](#)).

A patulin toxikus anyag, LD50 értéke egér esetében a beviteli módtól függően 16-35 mg/ttkg között van. A szervezetben nem akkumulálódik, azonban megnöveli a hajszálerek permeabilitását, ezáltal ödémákat, bevérzéseket okoz, továbbá az RNS és a DNS polimeráz enzimeket is gátolja. Mutagén és rákkeltő hatását eddig nem sikerült bizonyítani. Nagyobb

dózisok esetén immunszuppresszív hatású (Sohár, 2007). A patulin jelenlegi határértékeire vonatkozó adatok a 2. táblázatban olvashatóak.

2. táblázat: Patulinra vonatkozó felső határértékek

(Forrás: Saját szerkesztés, <http13> alapján)

Patulin	Felső határérték (µg/kg)	Megjegyzések
Gyümölcslevek, sűrítményből készült gyümölcslevek, sűrített gyümölcslevek és gyümölcslekvárok	50	A sűrített gyümölcslé esetében a felső határérték az elkészített gyümölcslére vonatkozik
Szeszes italok, almabor és almából készült, vagy almalevet tartalmazó más erjesztett italok	50	
A végső fogyasztók számára forgalomba hozott szilárd almatermékek a lejjebb felsorolt termékek kivételével	25	Beleértve az almakompótot és az almapürét is.
Csecsemőknek és kisgyermekeknek szánt almalé és szilárd almából készült termékek, amelyeket ilyenként jelölnek és hoznak forgalomba	10	Beleértve az almakompótot és az almapürét is. A felső határérték a fogyasztásra kész (fogyasztásra kész állapotban forgalmazott, vagy a gyártó utsításai szerint fogyasztásra elkészített) termékekre vonatkozik.
Bébiételek	10	A felső határértékek a fogyasztásra kész (fogyasztásra kész állapotban forgalmazott, vagy a gyártó utsításai szerint fogyasztásra elkészített) termékekre vonatkozik.

2.9. A gyümölcsök és a zöldségek mikrobiológiai romlását megelőző módszerek

A jó mezőgazdasági gyakorlatok az egészségi hatások és a gazdasági kár megelőzésének leghatékonyabb eszközei (NÉBIH, 2013). A módszerek célja a kertészeti termékek esetében, hogy késleltesse a termés érését, csökkentse a párologtatásból származó veszteségeket, valamint megelőzze a termés romlását. A mikrobiológiai romlást megelőző módszerek között megemlíthető a rezisztencia nemesítés, amely által a növények ellenállóbbá válhatnak

bizonyos kórokozókkal szemben, továbbá a betakarítás időpontja is kulcsfontosságú, hiszen éretlen állapotban a gyümölcsök és a zöldségek ellenállóbbak a mikrobákkal szemben. Gyakran alkalmazott technikák közé tartoznak a fungicid kezelések is. A betakarítás során a növények épsége és a sérülések, ütődések megakadályozása az egyik legfontosabb szempont. (Brückner, 2005).

A tárolás során többféle módszert alkalmaznak a romlás megakadályozására. A hűtőtárolás során a penészek nagy résznek szaporodása és a hifaképződés lelassul, azonban az egyes penészfajok kis hőmérséklettel szembeni érzékenysége különböző, illetve a hőmérséklet kiválasztásánál a gyümölcsök hőmérséklet toleranciájára is figyelemmel kell lenni. A módosított légterű tárolásnál a széndioxid szint megemelésével és az oxigénszint csökkentésével a termények légzése csökken, ennek köszönhetően pedig a mikrobiális hatásokkal szemben is ellenállóbbá válnak. A kémiai gátlószerek közé sorolhatjuk a fungicidek alkalmazását és az ózonnal történő kezelést, valamint a penészgomba spóra kicsírázásának megakadályozására hőkezeléssel és besugárzással kapcsolatos kísérletek is folynak (Brückner, 2005).

2.10. Mikotoxinmentesítésre irányuló módszerek

Mikotoxinmentesítésre többféle fizikai és kémiai módszer áll rendelkezésre, és folyamatosan folyik kutatás az új eljárások és technológiák fejlesztése terén. Fontos szempont, hogy a mikotoxin eltávolítása nem járhat együtt az élelmiszer minőségének csökkenésével, azaz az élelmiszer fogyaszthatósága, tápértéke, technológiai tulajdonságai nem változhatnak, toxikus bomlástermékek nem keletkezhetnek, illetve a módszerek gazdaságosan kivitelezhetőnek kell lennie. A fizikai módszerek közül a hőközlés, besugárzás vagy kémiai módszerek közül például az ammóniakezelés említhető meg. Gyakran alkalmazott technika továbbá az erősen szennyezett növényi részek (pl. csutkamaradványok, maghéj) eltávolítása. A mikotoxinban szegény/mentes takarmány, mikotoxinnal erősen szennyezett takarmánnyal való keverése azonban tiltott az Európai Unióban. Egy másik lehetséges technika a mikotoxinok eltávolítására a mikotoxin bontó mikroorganizmusok és enzimek alkalmazása. Illetve az állati szervezet mikotoxikózisának megelőzésére és kezelésére gyakran alkalmaznak különleges takarmánykiegészítőket, úgynevezett mikotoxin-adszorbenseket, amelyek alkalmazásánál azonban figyelembe kell venni, hogy más hasonló vegyületeket például vitaminokat, aminosavakat, peptideket is megköthetnek. Számos olyan módszer van azonban a fent említett technikák közül, amely jelenleg még ipari léptékben nem alkalmazható (Varga és munkatársai, 2014).

2.11. Növényvédőszerrel kapcsolatos aggodalmak

A peszticidek olyan kémiai vagy biológiai anyagok, amelyekkel a nem kívánatos kártevők elpusztíthatóak. Felhasználásának célja a minőség javítása és a termés hozam növelése. A peszticidek közül a penészgombák gátlására a fungicid készítményeket használják a mezőgazdaságban. Használatuk, forgalmazásuk és a maximálisan megengedett növényvédőszer-maradványok mennyisége szabályozott az Európai Unióban. A peszticidekkel kapcsolatos aggodalmak azonban a szigorú szabályozás ellenére is jelentősek. A különböző kutatások kimutatták, hogy a növényvédőszerrel való foglalkozási kitétség egyértelmű kapcsolatot mutat különféle egészségi problémákkal. A humán szervezetbe a legtöbb esetben alacsony koncentrációban jut be, azonban hosszú időn keresztül történik az expozíció. A különböző vegyületek hatása összeadódhat. Számos vizsgálat kimutatta, hogy a peszticidekkel való expozíció mértéke kapcsolatban állhat különböző típusú daganatos betegségek kialakulásával. Továbbá, az idegrendszer és egyéb szervek fejlődési rendellenességeivel, az alacsony születési testtömeggel, a koraszületéssel és a magzatelhalással is összefüggést mutat. Emellett hozzájárulhatnak a csökkent nemzőképesség, az asztma, az allergia, a Parkinson-kór és az Alzheimer-kór létrejöttéhez (NNK, 2021). Az Európai Környezetvédelmi Ügynökség jelentése szerint 2014-2021 között öt európai országban végzett nagyszabású humán biomonitoring-vizsgálat eredményei alapján a felmérésben részt vevő személyek szervezetének 84%-ában legalább kétféle peszticidet találtak. A növényvédőszer mennyisége a gyermekek szervezetében még magasabb volt, mivel a gyermekek különösen érzékenyek a kémiai anyagok káros egészségügyi hatásaira (EEA, 2023).

Az egészségi hatásain túl a környezeti hatásai is jelentősek. 2020-ban a vizsgált európai folyók és tavak 22%-ánál észleltek egy vagy több peszticidet a küszöbérték feletti mennyiségben. Egy 2019-es tanulmány során a vizsgált mezőgazdasági talajok 83%-a tartalmazott peszticid-maradványokat. A növényvédőszer-szennyezés következtében a biológiai diverzitáscsökkenés jelentős, főleg a rovarpopulációt tekintve (EEA, 2023). További problémát jelent az egyre több peszticidekkel szemben rezisztens faj megjelenése.

2.12. Biokontroll módszerek

A biokontroll olyan módszer, amelyben biológiai eljárásokat alkalmaznak például kártevők, gyomnövények vagy kórokozók elleni küzdelemben. Ez a módszer lehetővé teszi a környezetbarát megközelítést a növényvédelemben, hiszen minimalizálja a vegyi anyagok használatát és előnyben részesíti a természetes szabályozási mechanizmusokat. A különböző

kémiai vegyületek negatív hatásaival kapcsolatos aggályok következtében a természetesebb módszerek vizsgálata is megkezdődött. Az elmúlt években a fogyasztók egyre nagyobb figyelmet szentelnek a fenntartható és környezetbarát mezőgazdasági módszereknek. Az Európai Bizottság az európai zöld megállapodás egyik központi elemeként „a termelőtől a fogyasztóig” stratégia keretében megcélozta azt, hogy 2030-ra a felére csökkenjen az EU-ban a veszélyesebb növényvédő szerek és a vegyi növényvédő szerek használata, továbbá a használatukból eredő kockázat (<http6>).

A biológiai védekezéssel az élelmiszerlánc több szakaszán is találkozhatunk. Ilyen módszer a termesztés során például a magok élesztőgombákkal való bevonása, de az élesztőgombán kívül baktériumok alkalmazásával is kísérleteznek (Brückner, 2005). Például egyes tejsavbaktérium törzsekkel történő in vitro kísérlet alapján a tejsavbaktériumok képesek gátolni a penészgombák növekedését, valamint aflatoxin B1 és szterigmatocisztin megkötő képességgel is rendelkeznek. További kutatások folynak in vivo a tej aflatoxin M1 tartalmának változásával kapcsolatban tejsavbaktériumokkal kezelt és nem kezelt aflatoxin B1-gyel szennyezett szarvasmarhák szánt takarmányra vonatkozóan (Kosztik, 2021). A tárolás során romlást okozó penészgombák élesztőgombával, valamint baktériumokkal történő gátlása főként az almatermésűek, a csonthéjasok és a citrusfélék kapcsán volt sikeres. Ezen kutatások irodalma rendkívül nagy, de csak néhány készítménnyel találkozhatunk az üzemi gyakorlatban. A feldolgozás során általában védő- és starter kultúrákat alkalmaznak (Brückner, 2005).

A közelmúltban számos baktérium, gomba, protozoon és fonálféreg mutatott antagonista aktivitást, amelyeket különféle növények gyökér- és levélbetegségek elleni biológiai védekezésben, valamint rovarkártevők esetében is vizsgálnak. Jelenleg jelentősek a *Trichoderma* tömlősgomba-nemzetséggel kapcsolatos kutatások, amelyek a fitopatogének és a rovarkártevők elleni küzdelemben is hatékonyak lehetnek. (Lahlali és munkatársai, 2022). Ezen kívül például Millan és munkatársai spanyol szőlőültetvényekből származó 69 élesztőtörzset vizsgáltak in vivo és in vitro környezetben, hogy értékeljék azok hatékonyságát az *Alternaria alternata*, *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea*, valamint a talajban előforduló *Verticillium dahliae* és *Fusarium oxysporum* kórokozókkal szemben. Céljuk az volt, hogy megtalálják a potenciális élesztőtörzseket, melyek hatékonyan képesek csökkenteni a betakarítás utáni betegségek és a hervadásos betegségek súlyosságát. Az eredmények azt mutatták, hogy a *Wickerhamomyces anomalus* Wa-32 akár 40%-kal csökkentette a *V. dahliae* és akár 50%-kal a *F. oxysporum* által okozott betegségek súlyosságát. Emellett a *P. expansum* és a *B. cinerea* elleni biokontroll vizsgálatokban a *W. anomalus* Wa-32 hatására akár 86% és 97%-os

csökkenés is megfigyelhető volt a betegség súlyosságában, ezen kívül még több élesztőgomba törzssel értek el sikereket a vizsgált kórokozókkal szemben (Millan és munkatársai, 2021).

2.13. Élesztőgombák főbb tulajdonságai

Számos élesztőgomba faj található meg a természetben, főként növényeken, állatokon vagy a talajban. Az élesztőgombák egysejtű eukarióta szervezetek. Szaporodásuk vegetatív módon, sarjadzással történik. A sarjadzás során az anyasejten megjelenik egy kidudorodás, amely egyre növekszik, majd leválik. A leválás helye a sarjheg, amely fajra jellemző elhelyezkedésű. Az élesztősejtek alakja hengeres, ovális vagy gömb. Heterotróf szervezetek, a fajok közel fele fakultatív anaerob és alkoholos erjesztést végez. Szinte kizárólag a monoszacharidokat tudják erjeszteni, de aerob körülmények között sokféle vegyületet képesek felhasználni, például poliszacharidokat, alkoholokat vagy szerves savakat. Élelmiszerek közül főleg a magasabb cukortartalmúakban fordulhatnak elő, amelyben a baktériumok szaporodásra már kevésbé képesek. Élelmiszerromlást okozó fajok közül megemlítendő a *Zygosaccharomyces rouxii* vagy a *Zygosaccharomyces bailii*. Humán megbetegedést például a *Candida albicans* kóros mértékű elszaporodása okozhat. Az élelmiszeriparban többek között a sör és a bor erjesztéséhez és a kelt pékáruk elkészítéséhez használják (György, 2021).

2.14. Az élesztőgombák és a penészgombák közötti antagonista hatások jellemzése és alkalmazása a biológiai védekezésben

A közös élőhelyen jelen lévő populációk között különféle kölcsönhatások alakulhatnak ki. A kapcsolat a vizsgált populáció szempontjából lehet közömbös, hátrányos, vagy előnyös is (Mándics és Molnár, 2008). Az antagonizmus az élő szervezetek közötti kölcsönhatások egy formája, amelyben egy szervezet (például egy élesztő) aktívan gátolja vagy csökkenti egy másik szervezet (például egy penészgomba) növekedését vagy túlélését.

A gátlás hatásmechanizmusa komplex, néhány lehetséges mechanizmus bemutatása:

1. Tápanyagért és térért való versengés: két faj egyedei valamilyen környezeti forrásért versengenek (pl. tápanyag) és az egyik hátrányos helyzetbe kerül általa, hogy a másik faj egyedei gyorsabban felhasználják a forrásokat, vagy gyorsabban szaporodnak. Az élesztőgombák képesek gyorsan elszaporodni a termény felületén és felhasználják a tápanyagokat már azelőtt mielőtt a penészgombák spórái kicsíráznának (Brückner, 2005). További kutatási eredmény, hogy exogén aminosavak alkalmazása csökkentette az *Aureobasidium pullulans* élesztőgomba *Penicillium expansum* elleni antagonista hatását almagyümölcsön, amellyel bebizonyították a tápanyagért való versengés

jelentőségét a biológiai védekezésben. Emellett az élesztőgombák biofilmképző tulajdonságai is kiemelt fontosságúak a penészgombákkal szembeni küzdelemben (Zhang és munkatársai, 2020).

2. Antibiózis: az egyes mikroorganizmusok olyan anyagcseretermékeket például antibiotikumokat állítanak elő, amelyek más élőlények növekedését, anyagcseréjét gátolják, így kizárva azok versengését (Mándics és Molnár, 2008). Az ilyen toxikus metabolitok keletkezését azonban a biológiai-kémiai környezet idézi elő, a mikrobák könnyen rezisztenssé válhatnak a keletkező toxikus anyagokkal szemben (Brückner, 2005).
3. Parazitizmus: az élősködő egyed szoros kapcsolatot tart a gazdaszervezettel, nem pusztítja el, hanem annak anyagait hasznosítja (Mándics és Molnár, 2008). A penészgombákkal szemben antagonista kölcsönhatást kifejtő *Phytium nunn*, *Pichia guillermondii* vagy *Rhodoturula glutinis* esetén a megfigyelések szerint az élesztőgombák szorosan tapadnak a penészgombák hifáihoz (Brückner, 2005).
4. A növény ellenállóképességének növelése: a parazita jelenlétére a növényi szervezet védőmechanizmusainak beindításával reagál, amely által úgy nevezett fitoalexin termelődik, amely elősegíti a növényen keletkezett sebek behegését (Brückner, 2005). A védekezéssel kapcsolatos gének expresszióját fokozhatják az élesztőgombák és kiválthatják bizonyos védekezésben részt vevő enzimek aktivitását (Zhang és munkatársai, 2020).
5. Illékony szerves vegyületek és „killer” toxinok: egyes élesztőgombák képesek illékony szerves vegyületeket termelni, amelyeknek szerepük lehet a jövőben a postharvest kórokozók elleni védelemben, azonban a biztonságosságukat még vizsgálni kell a jövőben. Az úgynevezett „killer” toxinok versenyelőnyt biztosítanak az élesztőgombák számára, képesek elpusztítani a gombákat (beleértve más osztályba tartozó élesztőgombákat is). Azonban pontos hatásait az élelmiszerek tekintetében még vizsgálni kell (Zhang és munkatársai, 2020).

A hatásmechanizmusok megismerése elengedhetetlen a lehetséges élesztőgomba fajok gyakorlatban való alkalmazásához. Mindenképpen figyelembe kell venni az élesztőgombák, a fitopatogének, a gyümölcsök kölcsönhatásait, a környezetet, valamint az esetleges epifita

élőlények befolyásoló hatását is (Zhang és munkatársai, 2020). A hatásmechanizmussal kapcsolatos vizsgálatok jelenleg is folyamatban vannak, és továbbra is intenzív kutatás tárgyát képezik.

2.15 Az antagonista élesztők fogalma, kritériumai és kiválasztása

Az antagonista élesztők elnevezés olyan élesztőgombákra utal, amelyek meggátolhatják vagy megzavarhatják a fitopatogének (azaz például a penészgombák) növekedését, fejlődését, szaporodását, aktivitását. Az ideális biokontroll szerek kiválasztásának kritériumai a következők: legyen genetikailag stabil, egyszerű tápanyagigényű, szélsőséges környezeti tényezők között és alacsony koncentrációban is hatékony, valamint használható legyen a gyümölcsökön található gombakórokozók ellen. Ezen kívül az antagonista élesztőnek kereskedelmi potenciállal is kell rendelkeznie, azaz legyen könnyen tárolható és adagolható, más kémiai és fizikai kezelésekkel kompatibilisnek kell lennie (pl. módosított légterű tárolás, peszticidek stb.) és olcsó táptalajon is képes legyen szaporodni. További fontos szempont, hogy környezetbarátnak kell lennie, valamint ne legyen patogén sem a növényi szervezetre, sem a humán szervezetre nézve, káros anyagcseretermékek ne keletkezzenek a bomlása során (Zhang és munkatársai, 2020).

A biológiai védekezésben használható antagonista szervezetek kiválasztása („screenelés”) többféle módon történhet. Az izolátumok elkészítése többek között az alábbi módokon lehetséges:

- a gyümölcsöt vagy a zöldséget megmossák steril vízben, a mosófolyadékot hígítják, majd táptalajra szélesztik, majd morfológiai tulajdonságaik alapján az izolátumokat elkülönítik, majd egyséjtenyészeteket készítenek belőle
- bizonyos esetekben nem a gyümölcsöt, hanem más növényi részeket használnak, de a gátló hatást már a gyümölcsön vizsgálják (Brückner, 2005).

Az elmúlt évek tapasztalatai alapján az egyik laboratóriumi vizsgálatban antagonisztikusnak talált élesztőgombafaj a másik laboratóriumban nem bizonyult hatásosnak. Ennek lehetséges oka, hogy a laboratóriumi kutatók eltérő módszereket használnak (pl. különböző fajok különböző törzsei, különböző táptalajok vagy tenyésztési módok) a vizsgálatoknál, így az eredmények nehezen összehasonlíthatóak. Leggyakrabban alkalmazott antagonista hatás megfigyelésére szolgáló eljárások közé tartoznak a szilárd agarlemezen, folyékony táptalajon, vagy in vivo, a terményen végzett vizsgálatok (Sipiczki, 2023). Az agarlemezekon történő

vizsgálatok számos módszert kínálnak az antagonista hatás megfigyelésére, azonban közülük egyiket szeretnék részletesebben bemutatni.

A módszerben az élesztőgomba antagonizmusát úgy vizsgálják, hogy az indikátor organizmus (pl. penészgomba) által beoltott táptalajra oltják az élesztőgomba törzseket. Amennyiben az élesztő gátló hatást fejt ki, akkor a beoltott élesztő körül egy gátlási/csökkent növekedési zóna lesz látható. A penészgomba és az élesztőgomba tesztlemeze történő beoltásához többféle technika alkalmazható. A még folyékony tápközegbe az indikátor mikroorganizmus szuszpenzióját keverik és ezzel lemezöntést végeznek, vagy a szuszpenziót a táptalaj felszínére öntik. Ezt követően az élesztőgombát vagy az agarlemezbe vágott lyukakba öntik, vagy a lemez felszínére oltják. Amennyiben az élesztő még azelőtt felszabadítja az inhibitort, hogy az indikátor mikroorganizmus szaporodni kezdene, éles, tiszta gátlási zóna lesz látható, azonban, ha az indikátor organizmus gyorsabban növekszik, vagy az antagonista lassan fejt ki a hatását, akkor zavarosabb, elmosódott gátlási zóna alakul ki. A látható gátlási zóna hiánya nem feltétlenül jelenti azt, hogy az élesztőgombának nincs gátló hatása az indikátor mikroorganizmusra nézve. Előfordulhat, hogy az élesztőgomba lassabban szaporodik vagy a gátló hatás később alakul ki és ennek következtében az indikátor mikroorganizmus gyorsabban elszaporodik az agarlemezen. Ezt a képleltetett hatást kétféle módon lehet ellenőrizni: metilénkék hozzáadásával vagy a tesztelt lemez replikálásával egy friss lemezre. Az első esetben a kolónia körül kék gyűrű alakul ki, mert az elhaló indikátor sejtek felveszik a festéket és kékre színeződnek, míg az élő sejtek citoplazmája szintelenre redukálja a kékszínű festéket. A második esetben az indikátor mikroorganizmus telepeinek lenyomata körül egy gyenge vagy hiányzó növekedési zóna lesz látható, mivel az élesztő által elpusztított indikátor sejtek nem nőnek (Sipiczki, 2023). Egy másik lehetséges módszer, amely során a még folyékony tápközegbe élesztőszuszpenziót kevernek ezzel lemezöntést végeznek, majd a megszilárdult agar- élesztő keverék felszínére cseppentenek konídium/penészgomba spóra szuszpenziót. A penésztelep átmérőjének változását figyelik (Brückner, 2005).

In vivo kísérletekben gyakran alkalmazott módszer, amikor a terményt lemossák, fertőtlenítik, majd sebeket ejtenek rajta. A sebeket először élesztőgombával, majd baktérium, ezután pedig penészgombával oltják, majd inkubálják és ellenőrzik a romlási foltok előfordulását és átmérőjét (Brückner, 2005).

2.16. Az antagonista élesztők alkalmazásának korlátai

Az elmúlt években számos antagonista hatással rendelkező élesztőt azonosítottak, azonban közülük csak néhány került kereskedelmi forgalomba (Zhang és munkatársai, 2020). Jelenleg

a biokontroll szerek kereskedelmi értéke nem éri el a teljes növényvédő ipar 5%-át. Ennek fő oka az, hogy az antagonista élesztők hatékonyságának növeléséhez és a sikeres kereskedelmi alkalmazásához, illetve a fungicid szerekhez hasonló hatékonyság elérése érdekében további vizsgálatokra, fejlesztésekre van szükség. Az alkalmazott szerek gyakran in vitro jobb hatékonyságot mutatnak és nagyon érzékenyek a környezeti változásokra (pl. klíma, UV-sugárzás, hőmérséklet) (Lahlali és munkatársai, 2022).

A biokontroll élesztőgombák ígéretes alternatívát jelenthetnek a peszticid alkalmazásának csökkentésére. A jelenlegi kutatások szerint többek között a következő fejlesztési lehetőségeket érdemes megfontolni:

- élelmiszerbiztonsági vizsgálatok
- a hatásmechanizmusok pontosabb megértése és vizsgálata
- a biológiai védekezés hatékonyságának fokozása és fenntartása kereskedelmi feltételek mellett is
- széles spektrumú gombaellenes termékek kifejlesztése
- az eltarthatósági idő meghosszabbítása (Zhang és munkatársai, 2020) (például biokontroll szerek közül a *Trichoderma viride* négy hónapig életképes, míg a *Pseudomonas fluorescens* csak három hónapig (Lahlali és munkatársai, 2022))
- költségek csökkentése és a piaci elfogadottság javítása
- antagonista élesztő, kórokozó, gazdaszervezet, természetes mikroba közösség és a környezet közötti összetett kölcsönhatások megértése (Zhang és munkatársai, 2020), ökológiai következmények vizsgálata (Lahlali és munkatársai, 2022)
- továbbá egyes kutatások felvetik a GMO technológiákban rejlő további vizsgálati lehetőségeket is (Zhang és munkatársai, 2020).

3. Anyagok és módszerek

A vizsgálataimat a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élelmiszer-biotechnológiai Kutatócsoportjánál végeztem.

Egy doktori kutatómunka részeként lehetőségem volt almából izolált *Aspergillus clavatus* penészgomba törzsek és élesztőgomba törzsek közötti antagonista hatás vizsgálatára. A vizsgált penészgomba törzsek kimutathatóan patulin termeléséért felelős génszakasszal rendelkeztek. Kísérleti munkám lépései a következők voltak:

1. *Aspergillus clavatus* penészgomba törzsek felélesztése:

A penészgomba törzsek felélesztéséhez burgonya dextróz agart (PDA) használtunk, mivel célunk volt, hogy biztosítsuk a penészgomba gyors növekedését. A burgonya dextróz agar összetevői az 3. táblázatban láthatóak.

3. táblázat: Burgonya dextróz tápagar por összetevői

(Forrás: Saját szerkesztés a VWR gyártó termékének címkéje alapján)

Összetevő	Mennyiség (g/l)
burgonya pepton	4
glükóz	20
agar	15

A táptalajokat a gyártó utasításai alapján készítettem el, azaz 1 liter desztillált vízhez 39 g tápagar port adtam, amelyet összerázást követően autoklávban 121 °C-on 15 percre sterilizáltam. Az elkészített táptalajt folyó víz alatt 45 °C-ra hűtöttem, majd 20 ml-nyi mennyiségekkel 18 lemezt öntöttem Petri-csészékben. A táptalajok megszilárdulását követően steril oltókacs segítségével beoltottam a lemezeket két féle *Aspergillus clavatus* penészgomba törzssel (Br 1 és B9.6). Ezt követően a lemezeket 7 napig inkubáltam 30 °C-on.

2. Élesztőgombák felélesztése:

A – 20 °C-on tárolt élesztőgomba törzseket 48 órán át 37 °C-on inkubáltam. A kísérleti munkámhoz 63 db sertés feceszből izolált élesztőgomba törzset kaptam. A 63 darab élesztőgomba törzs a 4. táblázatban olvasható.

4. táblázat: A felhasznált 63 darab élesztőgomba faj

(Forrás: Saját szerkesztés)

Élesztőgomba faj neve	Élesztőgomba törzs jelölése
<i>Pichia kudriavzevii</i>	YP2, YP10, YP18, YP34, YP37, YP44, YP48, YP54, YP125, YP134, YP136, YP139, YP140, YP141
<i>Geotrichum bryndzae</i>	YP3, YP11, YP14, YP16, YP20, YP23, YP25, YP26, YP27, YP36, YP47, YP52, YP57, YP70, YP74, YP135
<i>Diutina rugosa</i>	YP9
<i>Trichosporon asahii</i>	YP12, YP22, YP35, YP51, YP73, YP77, YP78, YP79, YP86, YP87, YP108
<i>Pichia orientalis</i>	YP19
<i>Trichosporon coremiiforme</i>	YP29, YP81, YP133
<i>Diutina catenulata</i>	YP58, YP124, YP126
<i>Geotrichum candidum</i>	YP71, YP72, YP75, YP76, YP88, YP90, YP91, YP94, YP96, YP103, YP110, YP127, YP128
<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	YP100

Az élesztőgombák felélesztéséhez malt extract tápelevest (MEB) készítettem. A táptalajokat a gyártó utasításai alapján készítettem el, azaz 1 liter desztillált vízhez 17 g tápleves port adtam, amelyet összerázást követően autoklávban 121 °C-on 15 percig steriliztem. A táplevesből 1-1 ml-t 1,5 ml térfogatú Eppendorf csövekbe mértem. Ezt követően Vortex-keverő segítségével homogenizáltam az élesztőgomba izolátumokat, majd elszívófülke alatt 100-100 µl-t adtam az élesztőgomba izolátumokból a tápleveshez, amelyet újabb Vortex-keverést követően 3 napig

inkubáltam 30 °C-on. Mivel a 3. napon nem tapasztaltam az élesztőgomba törzsek jelentős aktivitását, ezért további 7 napig inkubáltam őket 30 °C-on.

3. Penészgomba spóraszuszpenzió készítése:

A szuszpenzió elkészítésének pontos lépései a következők voltak. Az alkoholba mártott tárgylemezeket Bunsen égő lángjában sterilizáltam, majd a kihűlt tárgylemezek segítségével a penészgomba lemezek felszínéről összegyűjtöttem az *Aspergillus clavatus* (Br 1, B9.6) micélium és konídiospóra tömeget. Ezt követően homogenizálást végeztem Potter-Elvehjem homogenizátor segítségével, melyhez a korábban összeállított és sterilizált Tween hígítót használtam. A Tween hígító összeállításához 1 liter desztillált vízhez 9 gramm NaCl-ra, 1 gramm Peptonra és 1 gramm Tween 80-ra volt szükség.

A Potter-Elvehjem homogenizátor, amely egy üvegcsőből és az üvegcsőbe illeszkedő dugattyúból áll (üveg vagy teflon). A csőbe szövetdarabokat (jelen esetben penészgomba törmeléket) kell elhelyezni, majd hígítót szükséges hozzá adni annak érdekében, hogy a homogenizátum ne legyen túl sűrű. Ezt követően, ha a dugattyút kézzel le-fel mozgatjuk, akkor a sejtekre ható nyírófeszültség és a folyadékelegy belső súrlódása következtében a konídiospórák szétválaszthatók a micéliumtömegetől (Pálfia, 2013), illetve a módszer által elősegíthetjük, hogy a sejtek egyenletesen helyezkedjenek el a mintánkban, így alkalmas a Bürcker-kamrával történő mennyiségi meghatározás előkészítésére is, amely a következő fontos lépés volt kísérletünk során.

A penészgomba törzsek mennyiségi meghatározása Bürcker-kamra segítségével történt. A Bürcker-kamrát élesztő- és penészspórák megszámlálására használják. Felülete kis- és nagy négyzetekre van osztva, a kis négyzetekhez tartozó térfogat $0,00025 \text{ mm}^3$, míg a nagy négyzeteké $0,004 \text{ mm}^3$. Az 1 ml térfogathoz tartozó sejtszámot úgy kapjuk meg, ha a kis négyzethez tartozó átlagos sejtszámot 4 millióval szorozzuk (4×10^6), míg a nagy négyzethez tartozót pedig 250.000-rel ($2,5 \times 10^5$) (Kiss és munkatársai, 1974). A penészgomba spórák mennyiségi meghatározása során a Bürcker-kamra kisebb négyzetei közül véletlenszerűen 10 db négyzetet kiválasztottam és a négyzethez tartozó konídiospórákat leszámláltam, majd átlagoltam, ezt követően meghatároztam az 1 ml-hez tartozó spóraszámot. Az 1 ml-hez tartozó átlagos sejtszám Br 1-es törzs esetén $8,24 \times 10^7$ volt, míg a B9.6 esetén 2×10^7 volt, melyhez a penészgomba törzsek 10-szeres hígítását használtam. Ezt követően PDA táptalajba 100 ml-ként 1 ml spóraszuszpenziót mértem mindkét *Aspergillus clavatus* penészgombatörzsből. A beoltott táptalajokból 21-21 db lemezt öntöttem két lépésben. Először 10 ml-t öntöttem a Petri-csészébe,

majd miután megszilárdult csészénként 3 db 12 mm átmérőjű steril kupakot helyeztem egymástól egyenlő távolságra. Ezt követően további 10 ml beoltott táptalajt öntöttem a kupakok köré. A táptalaj megszilárdulása után eltávolítottam a kupakokat. A kupakok által kapott mélyedésekbe mértem a felélesztett különböző élesztőgomba izolátumokat, amelyet a pipettázás előtt Vortex-keverő segítségével homogenizáltam. 1 hétig 30 °C-on inkubáltam, majd ezután kezdtük meg a kiértékelést.

4. Eredmények és értékelésük

Az élesztőgombák inkubálását követően szemrevételezés szerint a következő élesztőgombáknál mutatkozott jelentősebb növekedés: *Pichia kudriavzeii* YP2, *Diutina rugosa* YP9, *Pichia kudriavzeii* YP10, *Geotrichum bryndzae* YP14, *Pichia kudriavzeii* YP18, *Trichosporon coremiiforme* YP29, *Geotrichum bryndzae* YP52, *Trichosporon asahii* YP73, *Trichosporon asahii* YP78, *Trichosporon asahii* YP79, *Trichosporon coremiiforme* YP81, *Trichosporon asahii* YP86, *Trichosporon asahii* YP108, *Pichia kudriavzeii* YP134. A többi élesztőgomba törzs csak kisebb mértékben tudott felszaporodni.

A penészgomba és élesztőgomba antagonista hatás vizsgálata során a kapott adatokból az látszik, hogy az, hogy milyen mértékben szaporodott fel az élesztőgomba, nem minden esetben járt együtt a penészgomba növekedésére gyakorolt gátló hatásának mértékével. Általánosságban azonban elmondható, hogy azok az élesztőgombák váltottak ki jelentős antagonista hatást az inkubálást követően, amelyek a szemrevételezés során is erős növekedést mutattak.

Amennyiben a gátló hatás kialakul a lemezeken, az élesztőgombák körül a penészgomba kisebb mértékben van jelen, mint azokon a területeken, ahol csak a penészgombák növekednek. Ezen kívül a gátlási zónákban színváltozások is észlelhetőek, azaz a penészgombák eredeti színe elhalványul és az élesztőgomba színe figyelhető meg a penészgomba színe helyett, valamint morfológiai elváltozások is előfordultak, például a penészgombák deformáltabbak lettek és gyérebben növekedtek.

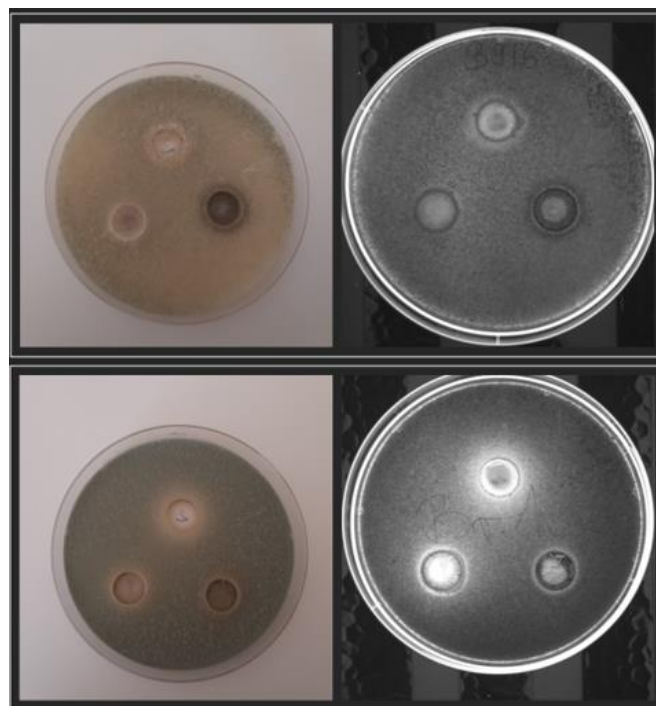
Az élesztőgombákat felülről kezdve az órajárás irányának megfelelően számoztam, a felső sorban az *Aspergillus clavatus* B9.6 törzs, míg az alsó sorban a Br1 törzs látható. Mind a 42 darab lemezt kiértékeltek szabad szemmel és géldokumentációs rendszer segítségével is. A géldokumentációs rendszer digitálisan rögzíti és dokumentálja az agaróz géleken kialakult mintákat, ezáltal lehetővé tette a vizsgálati eredmények rögzítését, az eredmények pontos összehasonlíthatóságát, az eredmények reprodukálhatóságát és a szabad szemmel kevésbé látható kölcsönhatások megfigyelését és rögzítését. A mellékletben bemutatott ábrákon a bal oldali képen telefonnal rögzített fotók láthatóak, míg a jobb oldali fotók géldokumentációs rendszer segítségével készültek.

Ahogy a 1. ábrán látható, a B9.6 penészgomba törzsre mérsékelt, míg a Br1 penészgomba törzs esetén jelentősebb gátló hatással volt a *Pichia kudriavzeii* YP2 élesztőgomba. Mindkét beállításnál kisebb mértékben volt jelen a penészgomba az élesztőgomba körül, valamint ezen kívül színváltozást is tapasztaltunk. A *Geotrichum bryndzae* YP3 egyértelmű gátló hatással

nem rendelkezett, azonban a Br1 penészgombatörzs vizsgálata során egy kisebb mértékű színváltozás volt megfigyelhető szabad szemmel, ezáltal lehetséges, hogy valamilyen fajta kölcsönhatás jelen volt a penészgomba és az élesztőgomba között. Fontos kiemelni, hogy a szabad szemmel történő vizsgálatnál a Br1-es törzs esetén a penészgomba sötét színéből adódóan az élesztőgomba által okozott színváltozások sokkal könnyebben észrevehetőek voltak. A Br1-es penészgomba törzsek kékes-szürkés színnel rendelkeztek, emiatt az élesztőgombára jellemző sárgás szín, az élesztőgomba elszaporodása esetén jól kivehető volt a lemezeken, míg a B9.6 penészgomba törzseknél fehéres-sárgás szín volt megfigyelhető, ezáltal az élesztőgombától szemrevételezés alapján nehezebben volt elkülöníthető. A *Diutina rugosa* YP9 a B9.6 törzsek esetén és a Br1 törzsek esetén is mérsékelt gátló hatás volt tapasztalható, amely a Br1 törzsnél kifejezettebb volt.

1. ábra: *Aspergillus clavatus* B9.6 és Br1 penészgomba törzsek és *Pichia kudriavzevii* (YP2), *Geotrichum bryndzae* (YP3), *Diutina rugosa* (YP9) élesztőgomba törzsek antagonista hatásának vizsgálata. Az élesztőgomba törzsek a megadott sorrendben az óramutató járása szerint fentről indulva helyezkednek el. A fenti sorban a B9.6 törzs, míg az alsó sorban a Br1 törzs található.

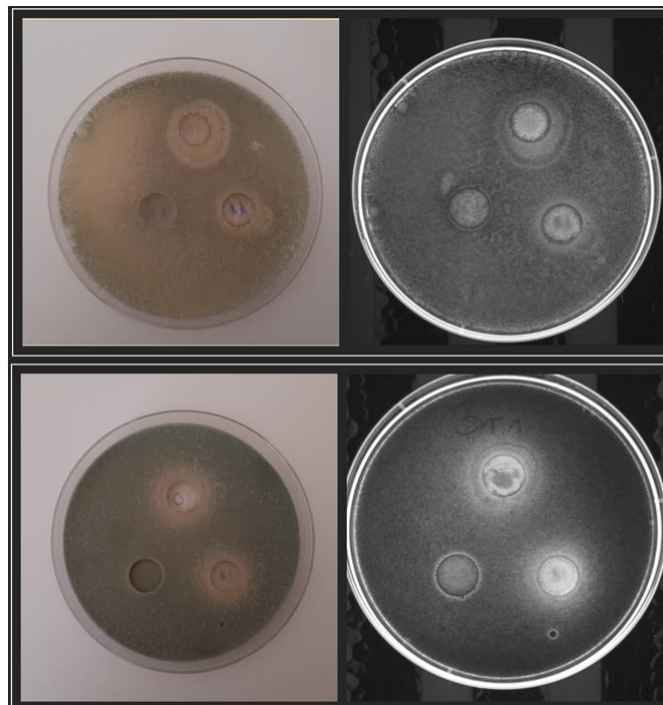
(Forrás: Saját forrás)



A 2. ábrán látható, hogy a *Pichia kudriavzeii* YP10 és a *Geotrichum bryndzae* YP11 élesztőgombák gátló hatást fejtenek ki mindkét penészgomba törzsre, ahol szabad szemmel és a géldokumentációs rendszerben is jól látható gátlási zónát hoztak létre. Azonban a *Trichosporon asahii* YP12 élesztőgomba törzs sem szabad szemmel, sem a géldokumentációs rendszerrel készült felvétel alapján sem volt hatással a penészgomba törzsek növekedésére. A *Geotrichum bryndzae* YP11 volt az egyetlen olyan élesztőgomba, amely a felszaporításkor nem rendelkezett szabad szemmel látható koncentrációval, ennek ellenére mégis gátló hatást fejtett ki a penészgombákra.

2. ábra: B9.6 és Br1 *Aspergillus clavatus* penészgomba törzsek és *Pichia kudriavzeii* (YP10), *Geotrichum bryndzae* (YP11), *Trichosporon asahii* (YP12) jelöléssel rendelkező élesztőgomba törzsek antagonista hatásának vizsgálata. Az élesztőgomba törzsek a megadott sorrendben az óramutató járása szerint fentről indulva helyezkednek el. A fenti sorban a B9.6 törzs, míg az alsó sorban a Br1 törzs található.

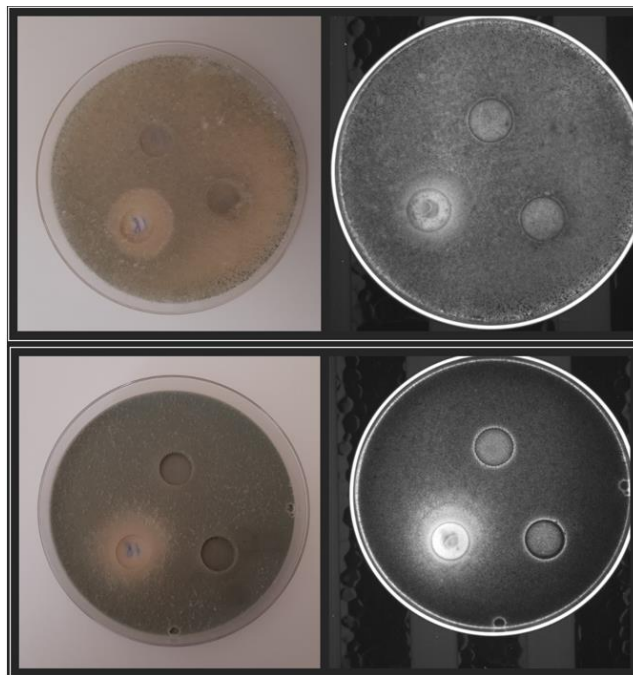
(Forrás: Saját forrás)



A 3. ábrán a *Pichia kudriavzeii* YP18 által okozott gátlási zóna látható mindkét penészgomba törzs esetén. A lemezen található *Geotrichum bryndzae* élesztőgomba törzseknél (YP14 és YP16) nem volt látható aktivitás.

3. ábra: B9.6 és Br1 *Aspergillus clavatus* penészgombatörzsek és *Geotrichum bryndzae* (YP14), *Geotrichum bryndzae* (YP16), *Pichia kudriavzevii* (YP18) jelöléssel rendelkező élesztőgombatörzsek antagonista hatásának vizsgálata. Az élesztőgomba törzsek a megadott sorrendben az óramutató járása szerint fentről indulva helyezkednek el. A fenti sorban a B9.6 törzs, míg az alsó sorban a Br1 törzs található.

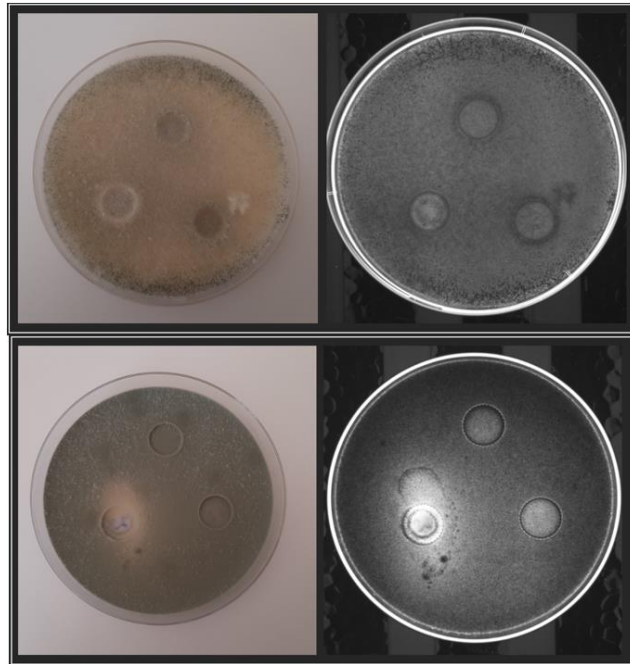
(Forrás: Saját forrás)



Az 4. ábra alapján a *Trichosporon asahii* YP73 élesztőgomba színváltozást eredményezett mindkét penészgomba törzs lemezein, míg a *Geotrichum candidum* élesztőgomba törzseknél (YP71 és YP72) gátló hatást nem tapasztaltunk.

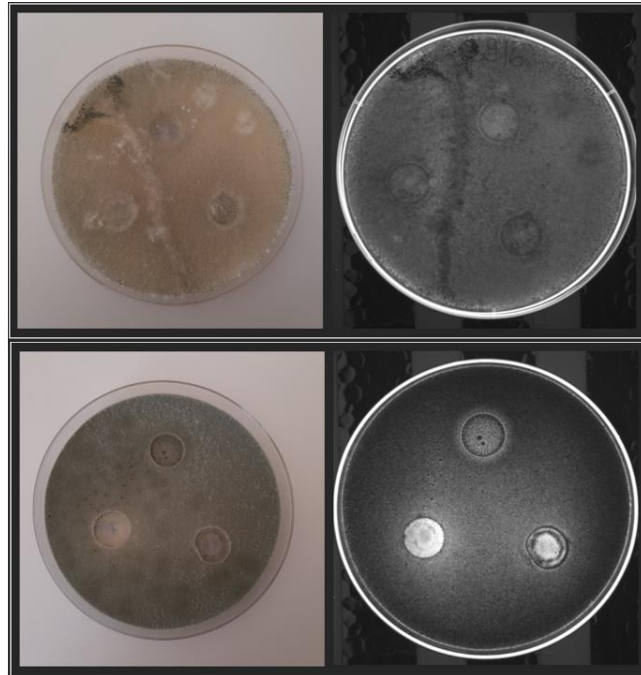
- 4. ábra:** B9.6 és Br1 *Aspergillus clavatus* penészgombatörzsek és *Geotrichum candidum* (YP71), *Geotrichum candidum* (YP72), *Trichosporon asahii* (YP73) jelöléssel rendelkező élesztőgombatörzsek antagonista hatásának vizsgálata. Az élesztőgomba törzsek a megadott sorrendben az óramutató járása szerint fentről indulva helyezkednek el. A fenti sorban a B9.6 törzs, míg az alsó sorban a Br1 törzs található.

(Forrás: Saját forrás)



A 5. ábrán a Br1 penészgomba törzs esetén a *Trichosporon asahii* (YP79) kis mértékű színváltozást eredményezett, azaz a lemezen a kékes-szürkés szín helyett sárgás elszíneződés volt megfigyelhető. A többi *Trichosporon asahii* élesztőgomba törzsnél (YP 77 és YP 78) egyértelműen ilyen elváltozás nem volt látható.

5. **ábra:** B9.6 és Br1 *Aspergillus clavatus* penészgombatörzsek és *Trichosporon asahii* (YP77), *Trichosporon asahii* (YP78), *Trichosporon asahii* (YP79) jelöléssel rendelkező élesztőgombatörzsek antagonista hatásának vizsgálata. Az élesztőgomba törzsek a megadott sorrendben az óramutató járása szerint fentről indulva helyezkednek el. A fenti sorban a B9.6 törzs, míg az alsó sorban a Br1 törzs található.
(Forrás: Saját forrás)



A többi lemezen antagonista hatást nem tapasztaltunk.

5. Következtetések és javaslatok

A kapott eredmények szerint a vizsgált 63 db élesztőgomba törzs közül 8 törzsnél (YP2, YP3, YP9, YP10, YP11, YP18, YP73, YP79) észleltem szemmel és géldokumentációs rendszerben látható aktivitást.

Sipiczki (2023) antagonista élesztőgombák azonosításának módszereivel foglalkozó publikációjában kiemeli, hogy ha az élesztő még azelőtt felszabadítja az inhibitort, hogy az indikátor mikroorganizmus szaporodni kezdene, éles, tiszta gátlási zóna lesz látható, azonban, ha az indikátor organizmus gyorsabban növekszik, vagy az antagonista mikroorganizmus lassan fejt ki a hatását, akkor zavarosabb, elmosódott gátlási zóna alakul ki. A publikáció fontos megállapítást tesz arra vonatkozóan, hogy a látható gátlási zóna hiánya nem feltétlenül jelenti azt, hogy az élesztőgombának nincs gátló hatása az indikátor mikroorganizmusra, azaz a penészgombára nézve. Előfordulhat, hogy az élesztőgomba lassabban szaporodik vagy a gátló hatás később alakul ki és ennek következtében az indikátor mikroorganizmus gyorsabban elszaporodik az agarlemezen. A késleltetett gátló hatást kétféle módon lehet ellenőrizni, amely a kísérletünkben kapott eredmények további vizsgálatára is alkalmas lehetne a jövőben. Az első módszer szerint metilénkék hozzáadásával az élesztőkolónia körül kék gyűrű alakul ki, mert az elhaló penészgomba sejtek felveszik a festéket és kékre színeződnek, míg az élő sejtek citoplazmája szintelenre redukálja a kékszínű festéket. A második módszerben a tesztlemezt replikáljuk egy friss lemezre. Ez esetben az indikátor mikroorganizmus telepeinek lenyomata körül egy gyenge vagy hiányzó növekedési zóna lesz látható, mivel az élesztőgomba által elpusztított penészgomba sejtek nem nőnek a replikált lemezen.

A penészgombák növekedésének lassítására a penészgomba szuszpenzió hígítása is megpróbálható, mivel, ha kevesebb a kiindulási konídiospóra és a környezeti körülmények nem változnak, akkor valószínűleg lelassítható a penészgomba telepek növekedése, így elősegítve az élesztőgombák gátló hatásának megjelenését. Ehhez a jövőben a penészgomba spórák mennyiségi meghatározásához alacsonyabb kiindulási spóraszámot használnék.

Sipiczki (2023) publikációjában kiemeli, hogy az élesztőgombák antagonista hatásának vizsgálatát célszerű lenne többféle a tanulmányában leírt in vitro módszerrel is megvizsgálni és ellenőrizni, annak érdekében, hogy a különböző technológiák esetleges „buktatóit” elkerüljük és megfelelő következtetésekre juthassunk. Felhívja a figyelmet továbbá arra, hogy az in vitro tesztek önmagukban csak az élesztőtörzsek antagonista aktivitásának szűrésére alkalmasak, azonban nem bizonyítják önmagukban az élesztőgombák bioprotektív hatását, ezekre technológiai körülmények között végzett további kísérletekre van szükség. Zhang és

munkatársai (2020) hasonló következtetésre jutottak, szerintük az antagonista élesztők hatékonyságának növeléséhez és a sikeres kereskedelmi alkalmazásához további vizsgálatokra, fejlesztésekre van szükség. Lahlali és munkatársai szerint (2022) az alkalmazott szerek gyakran in vitro jobb hatékonyságot mutatnak és nagyon érzékenyek a környezeti változásokra (pl. klímaváltozás, UV-sugárzás, hőmérséklet).

6. Összefoglalás

A vizsgálataimat a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élelmiszer-biotechnológiai Kutatócsoportjánál végeztem. Egy doktori kutatómunka részeként lehetőségem volt almából izolált *Aspergillus clavatus* penészgomba törzsek (Br1 és B9.6) és élesztőgomba törzsek közötti antagonista hatás vizsgálatára. A penészgomba törzsek kimutathatóan patulin termeléséért felelős génszakasszal rendelkeztek. Kísérleti munkám során az *Aspergillus clavatus* penészgomba törzsek felélesztését követően, sertések féceszmintáiból izolált 63 db élesztőgomba törzs felélesztése történt meg. Ezt követően a penészgomba spóraszuszpenzió elkészítése és mennyiségi meghatározása következett, amelyhez Bürcker-kamrát használtam. Az 1 ml-hez tartozó átlagos sejtszám/konidiospóraszám Br 1-es törzs esetén $8,24 \times 10^7$ volt, míg a B9.6 esetén 2×10^7 volt, a kísérletekhez a penészgomba törzsek törzssuszpenzió 10-szeres hígítását használtam. Ezt követően az *Aspergillus clavatus* penészgombatörzsekkel beoltott táptalajokból 21-21 db lemezt öntöttem két lépésben a következő módszerrel: először 10 ml-t öntöttem a Petri-csészébe, majd miután megszilárdult lemezenként 3 db 12 mm átmérőjű steril kupakot helyeztem egymástól egyenlő távolságra. Ezután további 10 ml beoltott táptalajt öntöttem a kupakok köré. A táptalaj megszilárdulását követően eltávolítottam a kupakokat. A kupakok által kapott mélyedésekbe mértem a felszaporított élesztőgomba izolátumokat. Egy hétig 30 °C-on inkubáltam. A lemezeket szabad szemmel és géldokumentációs rendszer segítségével is értékeltem.

A kapott eredmények alapján a következő élesztőgombák esetén észleltem hatást a penészgomba szaporodására vonatkozóan: *Pichia kudriavzeii* YP2, YP10 és YP18, *Geotrichum bryndzae* YP3 és YP11, *Diutina rugosa* YP9, és *Trichosporon asahii* YP73 és YP79, gátlási zóna alakult ki a *Pichia kudriavzeii* YP2, YP10 és YP18, *Diutina rugosa* YP9 és *Geotrichum bryndzae* YP11 törzsek esetében, míg a *Geotrichum bryndzae* YP3, *Trichosporon asahii* YP73 és *Trichosporon asahii* YP79 törzsek esetében inkább színváltozás volt megfigyelhető. A két penészgomba törzsre hasonlóan hatottak a felhasznált élesztőgombák, kisebb különbségek azonban megfigyelhetőek voltak. A *Pichia kudriavzeii* YP2 a B9.6 penészgomba törzsre mérsékelt, míg a Br1 penészgomba törzs esetén jelentősebb gátló hatással volt. A *Geotrichum bryndzae* YP3 egyértelmű gátló hatással nem rendelkezett, azonban a Br1 penészgombatörzs vizsgálata során egy kisebb mértékű színváltozás volt megfigyelhető szabad szemmel. A *Diutina rugosa* YP9 a B9.6 törzsek esetén és a Br1 törzsek esetén is mérsékelt gátló hatás volt tapasztalható, amely a Br1 törzsnél kifejezettebb volt. Továbbá a Br1 penészgomba törzs esetén a *Trichosporon asahii* YP79 kis mértékű színváltozást eredményezett, azaz a lemezen a kékes-

szürkés szín helyett sárgás elszíneződés volt megfigyelhető, míg a B9.6 törzs esetén nem tapasztaltunk ilyen változást.

Az ugyanahhoz a fajhoz tartozó élesztőgomba izolátumok törzsei eltérő tulajdonságokkal rendelkeztek a gátló hatás tekintetében. Azt tapasztaltuk, hogy nem minden törzs rendelkezett ugyan olyan gátló hatással még egy fajon belül sem.

A szakirodalmi adatok alapján azonban a látható gátlási zóna hiánya nem feltétlenül jelenti azt, hogy az élesztőgombának nincs gátló hatása az indikátor mikroorganizmusra nézve. Így a jövőben érdemes lenne olyan módszereket alkalmazni a gátló hatás további vizsgálatára, mint a metilénkék hozzáadása, a tesztlemezt friss lemezre történő replikálása, illetve a penészgombák növekedésének lassítására kisebb kiindulási konídiospóraszámú szuszpenzió használata. A szakirodalom alapján a megfelelő következtetések érdekében az élesztőgombák és penészgombák közötti antagonista hatás vizsgálatát célszerű lenne többféle in vitro módszerrel is megvizsgálni (Sipiczki, 2023).

Irodalomjegyzék

B. Tóth Sz. (2014): Mikotoxinok kvantitatív és kvalitatív analízise élelmiszermintákban. [PhD-értekezés] Keszthely: Pannon Egyetem Állat- és Agrárkörnyezet-tudományi Doktori Iskola

Banáti D. és Tóth O. (2023): Tapasztalás és tudomány: az élelmiszer-biztonság rövid története. Az empirikus ismeretek szerepe az élelmiszer-biztonság fejlődésében. I. rész: Óskor és ókor. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, LXIX. évf. 3. szám, 4469-4476.

Brückner A. (2005): Gyümölcsök és zöldségek romlását okozó *Penicillium expansum* gátlása élesztőgombákkal. [PhD-értekezés] Budapest: Budapesti Corvinus Egyetem Élelmiszertudományi Kar

Csernus O. (2014): Romlást okozó, potenciálisan toxinképző penészgomba fajok növekedésének modellezése a hőmérséklet és a vízaktivitás függvényében. [PhD-értekezés] Budapest: Központi Környezet- és Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet Mikrobiológiai Osztálya

Diána D. és Tóth, O. (2023): Tapasztalás és tudomány: az élelmiszer-biztonság rövid története. Az empirikus ismeretek szerepe az élelmiszer-biztonság fejlődésében.: II. rész: Középkor és újkor. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, 69(4), 4540–4556. <https://doi.org/10.52091/EVIK-2023/4-2>

EEA (2023): How pesticides impact human health and ecosystems in Europe. European Environment Agency honlapja. Letöltés dátuma: 2024. 03. 09. forrás: <https://www.eea.europa.eu/publications/how-pesticides-impact-human-health/how-pesticides-impact-human-health>

EFSA (2022): Élelmiszerbiztonság az EU-ban. EFSA honlapja. Letöltés dátuma: 2024. 03. 09. forrás: https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/eurobaromet_er22/country-factsheets/eb972_factsheet_hu_hu.pdf

Figler M. (szerk.) (2015): Élelmiszer minőségbiztosítás. Budapest: Medicina könyvkiadó. Elérhető: https://www.etk.pte.hu/public/upload/files/Palyazati_iroda/elnyert/Elelmiszer_minosegbiztositas.pdf [Letöltés dátuma: 2024.03.09].

György É. (2021). *Általános mikrobiológia*. Kolozsvár: Scientia.

http1 - ScienceDirect (Aspergillus Clavatus). Letöltés dátuma: 2024.03.09.
<https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/aspergillus-clavatus>

http2 - Microbenotes (Aspergillus Clavatus). Letöltés dátuma: 2024.03.09.
<https://microbenotes.com/aspergillus-clavatus/>

http3 - WHO (World Health Organization). Letöltés dátuma: 2024.03.09.
https://www.who.int/health-topics/children-environmental-health#tab=tab_2

http4 - IARC (International Agency for Research on Cancer). Letöltés dátuma: 2024.03.09.
<https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications/>

http5 - eur-lex.europa.eu. (An official website of the European Union). Letöltés dátuma: 2024.03.09. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reco/2003/598/oj>

http6 - Európai Bizottság (An official website of the European Union). Letöltés dátuma: 2024.04.15. https://agriculture.ec.europa.eu/sustainability/environmental-sustainability/low-input-farming/pesticides_hu

http7 - MDOSZ (Magyar Dietetikusok Országos Szövetsége). Letöltés dátuma: 2024.04.16.
https://www.okostanyer.hu/wp-content/uploads/2021/11/OKOSTANYER_felnott_A4_2021.pdf

http8 - WHO (World Health Organization). Letöltés dátuma: 2024. 04. 16.
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet>

http9 - KSH (Központi Statisztikai Hivatal). Letöltés dátuma: 2024. 04. 16.
<https://www.ksh.hu/infografika/2020/alma.pdf>

http10 - KSH (Központi Statisztikai Hivatal). Letöltés dátuma: 2024. 04. 16.
https://www.ksh.hu/stadat_files/mez/hu/mez0025.html

http11 - RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed). Letöltés dátuma: 2024. 04. 16.
<https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/screen/search?searchQueries=eyJkYXRlIjp7InN0YXJ0UmFuZ2UuOiIiLCJlbnRSYW5nZSI6IiJ9LCJjb3VudHJpZXMtOnt9LCJ0eXBIIjp7fSwibm90aWZpY2F0aW9uU3RhdHVzIjp7Im5vdGlmaWNhdGlvblN0YXR1cyI6W1sxXV19LCJwcm9kdWN0Ijp7fSwicmlzayI6e30sInJlZmVyZW5jZSI6IiIsInN1YmplY3QiOiJwYXR1bGluIiwicGFnZVNPemUiOiJ1fQ%3D%3D>

http12 – NÉBIH (Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal). Letöltés dátuma: 2024. 04. 16.
<https://portal.nebih.gov.hu/termekvisszahivas>

http13 – eur-lex.europa.eu. (An official website of the European Union). Letöltés dátuma: 2024.04.16. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HU/TXT/PDF/?uri=CELEX:32023R0915>

http14 - RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed). Letöltés dátuma: 2024. 04. 16.
<https://webgate.ec.europa.eu/rasffwindow/screen/search?searchQueries=eyJkYXRlIjp7InN0YXJ0UmFuZ2UiOm51bGwsImVuZGFJhbmdlIjoieIn0sImNvdW50cmllcyI6e30sInR5cGUiOnt9LClJub3RpZmljYXRpb25TdGF0dXMiOmsibm90aWZpY2F0aW9uU3RhdHVzIjpbWzFdXX0sInByb2R1Y3QiOnt9LClJyaXNrIjpb7fSwicmVmZXJlbnNlIjoieIiwic3ViamVjdCI6InBlc3RpY2lkIiwicGFnZVNpemUiOjIlfQ%3D%3D>

Jakucs E. és Varga L. (2003): Mikológia. Budapest: Agroinform kiadó és Nyomda Kft.

Kiss I., Farkas J. & Pulay G. (1974). *Mikrobiológiai vizsgálati módszerek az élelmiszeriparban I.* Budapest: Mezőgazdasági Könyvkiadó Vállalat

Kosztik J. (2021): Egzotikus állatokból izolált tejsavbaktériumok azonosítása és jellemzése biotechnológiai hasznosíthatóság szempontjából. [PhD-értekezés] Budapest: MATE Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet Élelmiszer-biotechnológiai Kutatócsoport

Lahlali R., Ezrari S., Radouane N., Kenfaoui J., Esmael Q., El Hamss H., Belabess Z. and Barka E. A. (2022): Biological Control of Plant Pathogens: A Global Perspective. *Microorganisms*, 10(3), p.596.
doi:<https://doi.org/10.3390/microorganisms10030596>.

Mándics D., Molnár K. (2008): *Biológia középiskolásoknak, érettségizőknek.* Budapest: Panem Könyvkiadó Kft.

Millan A. F., Larraya L., Farrán I., Ancín M., & Veramendi J. (2021). Successful biocontrol of major postharvest and soil-borne plant pathogenic fungi by antagonistic yeasts. *Biological Control*, 160, 104683. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104683>

Sipiczki M. (2023): Identification of antagonistic yeasts as potential biocontrol agents: Diverse criteria and strategies. *International Journal of Food Microbiology*, 406, pp.110360–110360.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110360>.

NÉBIH (2013): Kérdezz-felelek az élelmiszerláncban előforduló mikotoxinok jelentőségéről. NÉBIH honlapja. Letöltés dátuma: 2024. 03. 09. forrás:

https://portal.nebih.gov.hu/documents/10182/21392/Kerdezz_felelek_az_elelmiszerlancban_e_lofordulo_mikotoxinok_jelentosegerol.pdf/3044b8f8-020f-43ff-8e57-967877291f03

NNK (2021): Növényvédő szerek. Nemzeti Népegészségügyi Hivatal honlapja. Letöltés dátuma: 2024. 03. 09. forrás: <https://www.nnk.gov.hu/index.php/nnk-projektek/human-biomonitoring/novenyvedo-szerek>

OGYEI (2019): Kutatási jelentés a felnőttek táplálkozásának, tápláltsági állapotának trendjeiről. Letöltés dátuma: 2024. 04.16. forrás: https://ogyei.gov.hu/dynamic/otap_2019_kutatasi_jelentes_v3.pdf

Omotayo O.P., Omotayo A.O., Mwanza M. and Babalola O.O. (2019): Prevalence of mycotoxins and their consequences on human health. *Toxicological Research*, 35(1), pp.1–7. doi:<https://doi.org/10.5487/tr.2019.35.1.001>.

Pálfia Z. (Szerk.) (2013): *A sejtbiológia alapjai*. Eötvös Loránd Tudományegyetem. Letöltés dátuma: 2024. 03. 09. forrás: http://physiology.elte.hu/eloadas/bev_biol_kornytan/jegyzet/2011-0073_sejtbiologia.pdf

Sohár P. (2007): Mikotoxinok az élelmiszerláncban. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, 53 2007/Ksz, 60-67.

Szűcs I. (szerk.) (2011): Mezőgazdasági ágazatok gazdaságtana - Elméleti jegyzet. Budapest: Debreceni Egyetem. Elérhető: https://dtk.tankonyvtar.hu/xmlui/bitstream/handle/123456789/3482/mezogazdasagi_agazatok_gazdasagтана_elmeleti_jegyzet.pdf?sequence=1 [Letöltés dátuma: 2024.03.09].

Varga J., Szigeti Gy., Baranyi N., Szekeres A. és Kucsubé S. (2014): Mikotoxinok, mikotoxinogén gombák, micetizmusok – Elméleti jegyzet. Szeged. Elérhető: https://eta.bibl.u-szeged.hu/726/1/mikotoxin_jegyzet_2014_abraval.pdf [Letöltés dátuma: 2024.03.09].

Varga J., Due, M., Frisvad, J.C. and Samson, R.A. (2007): Taxonomic revision of *Aspergillus* section *Clavati* based on molecular, morphological and physiological data. *Studies in Mycology*, 59, pp.89–106. doi:<https://doi.org/10.3114/sim.2007.59.11>.

Zhang X., Li, B. Zhang, Z. Chen, Y. and Tian S. (2020): Antagonistic Yeasts: A Promising Alternative to Chemical Fungicides for Controlling Postharvest Decay of Fruit. *Journal of Fungi*, [online] 6(3), p.158. doi:<https://doi.org/10.3390/jof6030158>.

Táblázatok és ábrák jegyzéke

Táblázatok:

- 1. táblázat:** Mikotoxinok egészségre kifejtett hatásai - 10. oldal
- 2. táblázat:** Patulinra vonatkozó felső határértékek – 12. oldal
- 3. táblázat:** Burgonya dextróz tápagar por összetevői – 21. oldal
- 4. táblázat:** A felhasznált 63 darab élesztőgomba faj - 22. oldal

Ábrák:

- 1. ábra:** *Aspergillus clavatus* B9.6 és Br1 penészgomba törzsek és *Pichia kudriavzevii* (YP2), *Geotrichum bryndzae* (YP3), *Diutina rugosa* (YP9) élesztőgomba törzsek antagonista hatásának vizsgálata. Az élesztőgomba törzsek a megadott sorrendben az óramutató járása szerint fentről indulva helyezkednek el. A fenti sorban a B9.6 törzs, míg az alsó sorban a Br1 törzs található. - 26. oldal
- 2. ábra:** B9.6 és Br1 *Aspergillus clavatus* penészgomba törzsek és *Pichia kudriavzevii* (YP10), *Geotrichum bryndzae* (YP11), *Trichosporon asahii* (YP12) jelöléssel rendelkező élesztőgomba törzsek antagonista hatásának vizsgálata. Az élesztőgomba törzsek a megadott sorrendben az óramutató járása szerint fentről indulva helyezkednek el. A fenti sorban a B9.6 törzs, míg az alsó sorban a Br1 törzs található. – 27. oldal
- 3. ábra:** B9.6 és Br1 *Aspergillus clavatus* penészgombatörzsek és *Geotrichum bryndzae* (YP14), *Geotrichum bryndzae* (YP16), *Pichia kudriavzevii* (YP18) jelöléssel rendelkező élesztőgombatörzsek antagonista hatásának vizsgálata. Az élesztőgomba törzsek a megadott sorrendben az óramutató járása szerint fentről indulva helyezkednek el. A fenti sorban a B9.6 törzs, míg az alsó sorban a Br1 törzs található. – 28. oldal
- 4. ábra:** B9.6 és Br1 *Aspergillus clavatus* penészgombatörzsek és *Geotrichum candidum* (YP71), *Geotrichum candidum* (YP72), *Trichosporon asahii* (YP73) jelöléssel rendelkező élesztőgombatörzsek antagonista hatásának vizsgálata. Az élesztőgomba törzsek a megadott sorrendben az óramutató járása szerint fentről indulva helyezkednek el. A fenti sorban a B9.6 törzs, míg az alsó sorban a Br1 törzs található. – 29. oldal

5. ábra: B9.6 és Br1 *Aspergillus clavatus* penészgombatörzsek és *Trichosporon asahii* (YP77), *Trichosporon asahii* (YP78), *Trichosporon asahii* (YP79) jelöléssel rendelkező élesztőgombatörzsek antagonista hatásának vizsgálata. Az élesztőgomba törzsek a megadott sorrendben az óramutató járása szerint fentről indulva helyezkednek el. A fenti sorban a B9.6 törzs, míg az alsó sorban a Br1 törzs található. – 30. oldal

Nyilatkozatok

NYILATKOZAT

a diplomadolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

A hallgató neve:	Balázs Krisztina
A Hallgató Neptun kódja:	WGC6V7
A dolgozat címe:	Élesztőgombák hatása patulin termelő Aspergillus clavatus szaporodására
A megjelenés éve:	2024
A konzulens intézetének neve:	Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
A konzulens tanszékének a neve:	Biomérnök és Erjedéssipari Technológia Tanszék

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

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

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

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

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem MATER Hallgatói Dolgozatok repozitóriumába. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelté után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem MATER Hallgatói Dolgozatok repozitóriumában.

Kelt: 2024 év 04 hó 20 nap



Hallgató aláírása

NYILATKOZAT

Balázs Krisztina (hallgató Neptun azonosítója: WGC6V7) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy a diplomadolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A diplomadolgozatot a záróvizsgán történő védeésre javaslom / nem javaslom¹.

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem^{*2}

Kelt: 2024 év 04 hó 19 nap



belső konzulens