

**MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÉMIAI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYA**

ÉLELMISZERTUDOMÁNYI TUDOMÁNYOS BIZOTTSÁG

rendezésében

**2019. szeptember 20-án
tartandó**

376.

TUDOMÁNYOS KOLLOKVIUM

előadásainak rövid kivonata

346. füzet

Budapest



MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÉMIAI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYA

MEGHÍVÓ

az MTA Élelmiszertudományi Tudományos Bizottság
2019. szeptember ülése keretében rendezett

376. Tudományos Kollokviumra

Időpont: 2019. szeptember 20. péntek, 9.30 órákor
Helyszín: MTA Irodaház (1051 Budapest, Nádor u. 7.) fsz. 29. sz. terem

Elnök: Halász Anna

- 9.30 - 10.10 **Kovács Krisztina, Ferenczi Szilamér, Kuti Dániel, Batáné Vidács Ildikó, Kukolya József**
A mikrobiom egészségre gyakorolt hatásának elemzése pre- és probiotikumok tesztelésére alkalmas egér-modellrendszerek segítségével
- 10.10 - 10.30 **Bujna Erika, Nguyen Bao Toan, Ta Phuong Linh, Kun Szilárd, Rezessyné Szabó Judit, Nguyen Duc Quang**
Fermentált gyümölcslevek előállítása probiotikumokkal és életképességük megőrzése
- 10.30 - 10.50 **Kilin Ákos, Urbán Imola, Szécsi Anett, Rezessyné Szabó Judit, Nguyen Duc Quang**
Környezeti tényezők hatása probiotikus *Lactobacillus* törzsek hidrogén-peroxid termelésére
- 10.50 - 11.20 **SZÜNET**
- 11.20 - 11.40 **Kukolya József**
Aflatoxin és szterigmatocisztin termelő penészek hazai előfordulása, toxintermelési potenciáljuk feltérképezése és genotoxinjaik biológiai hatásának vizsgálata
- 11.40 - 12.00 **Gergács Zoltán**
A takarmányok, élelmiszer alapanyagok mikotoxin szennyezése elleni védekezés gyakorlati lehetőségei a Bonafarm Csoportnál

Budapest, 2019.szeptember 6.

Simonné Dr. Sarkadi Livia
ÉTB elnök

Dr. Gelencsér Éva
ÉTB társelnök

1051 Budapest, Nádor utca 7. (1245 Budapest, Pf. 1000)

Telefon: +36 1 411-6306 / Fax: +36 1 411-6122 / E-mail: kemia@titkarsag.mta.hu / www.mta.hu

A MIKROBIOM EGÉSZSÉGRE GYAKOROLT HATÁSÁNAK ELEMZÉSE PRO- ÉS PREBIOTIKUMOK TESZTELÉSÉRE ALKALMAS EGÉR MODELL-RENDSZEREK SEGÍTSÉGÉVEL

Kovács Krisztina¹, Ferenczi Szilamér¹, Kuti Dániel¹, Batáné Vidács Ildikó² és Kukolya József²

¹ *Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet és* ² *NAIK Agrár-környezettudományi Kutatóintézet*

A probiotikumok olyan mikroorganizmusok, melyek szimbiotikus kapcsolatban előnyösek a gazdaszervezet egészséges működése szempontjából. A prebiotikumok pedig segítik a kedvező hatású probiotikus törzsek működését, szaporodását és kolonizációját.

A gerincesek szervezetén és szervezetében több helyen találunk baktériumközösségeket, pl. a bőrön, a légutakban és az urogenitális traktusban, de legnagyobb mennyiségben a bélben. A bélflóra kommenzalista és szimbionta baktériumai kordában tartják a baktériumközösség patogén hatású szereplőit, biológiailag aktív és hasznos metabolitokat termelnek és szerepet játszanak az immunrendszer felismerő és végrehajtó funkcióinak szabályozásában. A jótékony hatású baktériumok jelenléte a mikrobiomban hozzájárul az egészséges növekedéshez, fejlődéshez, anyagcseréhez sőt a normális idegrendszeri működéshez is.

Az előadásban olyan pre- és probiotikumok hatását, valamint módosított bélbaktériumok jelentőségét mutatjuk be egészséges és patológiás egérmockellen, melyek segítségével a bélflóra közvetítésével jótékonyan befolyásolhatjuk az állatok testösszetételét, metabolizmusát, stressz-reaktivitását, hormonális és immunműködését sőt egyes szaporodási funkcióit is.

FERMENTÁLT GYÜMÖLCSLEVEK ELŐÁLLÍTÁSA PROBIOTIKUMOKKAL ÉS ÉLETKÉPESSÉGÜK VIZSGÁLATA

**Bujna Erika, Nguyen Bao Toan, Ta Phuong Linh, Kun Szilárd, Rezessyné Szabó Judit,
Nguyen Duc Quang:**

SZIE Élelmiszertudományi Kar, Sör- és Szeszipari Tanszék

A probiotikumok olyan mikroorganizmusok, melyek bizonyítottan jótékony hatással vannak az emberi szervezetre, azonban élelmiszer összetevőként történő hasznosulásuk hatékonysága nem egyértelmű. Terméktípustól függően az előállítás, tárolás, majd az emésztés során a probiotikumot ért hatások következtében fiziológiai tulajdonságaik megváltozhatnak.

A gyümölcslevek megfelelő tápanyagul szolgálnak a probiotikus baktériumok szaporodására, továbbá nem rendelkeznek a tej alapú termékek hátrányos tulajdonságaival (laktóz intolerancia, tejfehérje allergia), mely szélesebb körű fogyaszthatóságot biztosít. A fermentált gyümölcsleveknél problémát jelenthet a nem kívánatos mellékíz és illat. Egyes trópusi gyümölcsök – többek közt az ananász vagy a mangó – azonban pozitívan befolyásolhatják a probiotikus termékek íz profilját és aromáját, így nem szükséges egyéb maszkolási mód alkalmazása a fogyasztói elfogadottság növelésére. Mindezek alapján trópusi gyümölcslevek (ananász, mangó) fermentálhatóságát vizsgáltuk probiotikus *Lactobacillus*-ok és *Bifidobacterium*-ok alkalmazásával.

A probiotikus termék kialakításánál fontos, hogy a mikroorganizmusok megőrizzék életképességüket és megfelelő számban jelen legyenek a termékben a minőségmegőrzési határidő végéig. Szakirodalom alapján több módszer is található az életképesség javítására, köztük a prebiotikumok alkalmazása és a mikrokapszulázás, melyek védő hatásának vizsgálatára is irányultak kísérleteink. A prebiotikumok szerepét mind a fermentáció, mind az emésztőszervi modellezés és tárolás során követtük. A tárolást szobahőmérsékleten és hűtött körülmények között is elvégeztük 2-3 hónap időtartamig.

Megállapítottuk, hogy a vizsgált mikroorganizmusok kiválóan szaporodtak a trópusi gyümölcslevekben, egyéb tápanyag hozzáadása nélkül. Vegyes kultúras fermentáció esetén a probiotikumok kedvező hatással vannak egymás szaporodására, a bifidobaktériumok sejtszáma egy nagyságrenddel magasabb, mint monokultúrában alkalmazva.

Az érzékszervi jellemzőket illetően elmondható, hogy a fermentált terméknel is érezhető a friss, gyümölcsös jelleg, így akár gyümölcsle mixek létrehozásához is kiválóan alkalmasak.

Az emésztőszervi modellezés során azt tapasztaltuk, hogy a gyomorsav és az epesók sejtszám csökkentő hatása ellen a prebiotikumként alkalmazott frukto-oligoszacharid védőhatása érvényesül, azonban ennek mértéke törzsenként eltérő.

A probiotikus baktériumok életképességét a tárolás során a hőmérséklet befolyásolja legnagyobb mértékben, hűtőszekrényben akár 3 hónapos tárolás után is megőrzi életképességüket és biztosítják a probiotikus terméktől elvárt sejtszámot. A szobahőmérsékleten történő tárolás már 1 hónap alatt 2-4 nagyságrendnyi sejtszám csökkenést eredményezett, s nem érvényesült különböző prebiotikumok, eltérő koncentrációban történő alkalmazása során sem védő hatásuk. Továbbfejlesztési lehetőségre ad reményt, hogy gabonaitalban, extrúziós technikával, prebiotikum kiegészítéssel megvalósított mikrokapszulázott probiotikum sejtszáma szobahőmérsékleten is 10^6 TKE/g maradt 3 hónapig tartó tárolást követően.

„A kutatás az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg (a támogatási szerződés száma: EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005).”

KÖRNYEZETI TÉNYEZŐK HATÁSA PROBIOTIKUS *LACTOBACILLUS* TÖRZSEK HIDROGÉN-PEROXID TERMELÉSÉRE

**Kilin Ákos, Urbán Imola, Rezessyné Dr. Szabó Judit, Szécsi Anett,
Dr. Nguyen Duc Quang**

Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Sör- és Szeszipari Tanszék

A *Lactobacillus*ok az élelmiszerek, valamint az emberi és állati szervezetek természetes, hasznos mikrobiótájának alkotói és ebből adódóan starter és védő kultúraként is alkalmazhatóak. Közülük egyes fajok probiotikus tulajdonsággal rendelkeznek, tehát jótékony hatást fejtenek ki a humán szervezetre.

A tejsavbaktériumok metabolizmusuk során olyan anyagcseretermékeket (szerves savak, bakteriocinek, extracelluláris poliszacharidok, hidrogén-peroxid stb.) termelnek, amelyek a kórokozó mikroorganizmusok aktivitását gátolhatják.

A *Lactobacillus* törzsek hidrogén-peroxid termelése egy kevésbé kutatott terület, noha oxigén jelenlétében a flavoprotein-oxidáz illetve a nikotinamid-adenin-dinukleotid-peroxidáz aktivitásuk révén e vegyület szintézisére is képesek. Jelen munka tárgya különböző *Lactobacillus* törzsek hidrogén-peroxid szintézisének tanulmányozása, amelynek aktualitását az adja, hogy élettani hatást fejthetnek ki az emberi szervezet mind azon részein, ahol az oxigén jelenlétével és potenciális patogének megtelepedésével számolhatunk.

Meghatároztuk azon törzsek körét, amelyek ígéretesek hidrogén-peroxid termelés szempontjából, kromogént és peroxidáz enzimet tartalmazó szilárd tápközegeken. A kiválasztott törzsek termelési potenciáljának felmérése 0,2M pH=6,5 nátrium-foszfát pufferben történt hidrogén-peroxid mennyiségi meghatározásával. A kísérletekben MRS tápközegben felszaporított sejteket összegyűjtve 5°C-on rázatás mellett az idő függvényében követtük a hidrogén-peroxid koncentrációk alakulását. A szelekciót követően öt kiválasztott törzs (*L. crispatus* LCR01, *L. helveticus* R-52, *L. fermentum* HA-179, *L. salivarius* HA-118, *L. reuteri* HA-188) esetében megvizsgáltuk a környezeti tényezők hatását a H₂O₂ szintézisére. Kimutatható, hogy a glükóz kiegészítése jelentősen fokozta a hidrogén-peroxid szintézist. Összehasonlítva a törzsek hidrogén-peroxid szintézisét 5 °C-on és 37°C-on, rázatás mellett, valamint álló tenyészetben megállapítottuk, hogy 37 °C-on rövidebb idő alatt elérhető a termelés maximuma, ami humán alkalmazás tekintetében kedvező eredménynek értékelhető. Bizonyítást nyert, hogy az előtenyészetnél alkalmazott tápközeg összetétele is jelentős hatással van a sejtek hidrogén-peroxid szintézisére. A LAPTg (ásványi anyagokban és szénhidrátban csökkentett, ugyanakkor fehérjében gazdag) tápközeg esetén 1-2 nagyságrenddel magasabb H₂O₂ mennyiség termelődött az MRS-hez képest. LAPTg tápközegben előtenyésztett *L. crispatus* LCR01 törzs a maltóz jelenlétében 162 µg, a szacharóz jelenlétében 131 µg és a glükóz jelenlétében pedig 71 µg H₂O₂-ot termelt 10⁸sejtre nézve.

Összeségében megállapítható, hogy egyes *Lactobacillus* törzsek jelentős különbségeket mutatnak hidrogén-peroxid szintézisükre nézve. A törzsek termelőképességét nagy mértékben befolyásolja a baktériumok előélete, valamint a környezeti tényezők, mint a hőmérséklet és a tápanyag ellátottság is. Mindezen tényezők figyelembevételével lehet kiválasztani az alkalmazás szempontjából hatékony *Lactobacillus* törzset.

A kutatómunka a KFI_16-1-2017-0077 projekt anyagi támogatásával valósult meg.

AFLATOXIN ÉS SZTERIGMATOCISZTIN TERMELŐ PENÉSZEK HAZAI ELŐFORDULÁSA, TOXINTERMELÉSI POTENCIÁLJUK FELTÉRKÉPEZÉSE ÉS GENOTOXINJAİK BIOLÓGIAI HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA

Kukolya József

NAIK Agrár-környezettudományi Kutatóintézet, Budapest

A szterigmatocisztin (STC) az *Aspergillus* nemzetségbe tartozó penészek, *A. versicolor*, *A. nidulans* által szintetizált poliketid-mikotoxin, ami két enzimatis lépésben képes átalakulni aflatoxinná (AFB) az azt termelő penészekben. Jóllehet az STC-t és szerkezetét jóval az aflatoxin előtt leírták, a genotoxicitása miatt veszélyes szterigmatocisztinról érdekes módon igen kevés publikáció érhető el napjainkig. A publikációk alapján, Ames tesztben vizsgálva, az STC genotoxikus hatása csak tized akkora, mint az aflatoxiné és az IARC besorolás szerint is csak a 2B, a lehetséges rákkeltő csoportba tartozik. A rendelkezésre álló adatok alapján elmondható, hogy a toxin alacsony szinten jelen van európai gabonamintákban, de magyarországi adat eddig nincs sem kontamináció sem termelő penész megjelenése szempontjából.

Az STC-termelő penészek után kutatva az elmúlt három évben több mint hatvan, az *Aspergillus* nemzetségbe tartozó penész izolátumot gyűjtöttünk hazai gabonatermő területekről és malmokból. A toxin termelésre képes izolátumok ITS, kalmodulin és tubulin szekvenanciaanalízisen alapuló molekuláris taxonómiai identifikálása során eddig négy *A. versicolor*-törzset és egy, eddig csak Horvátországból kimutatott *A. creber* törzset azonosítottunk. Az STC termelést vékonyréteg-kromatográfiás és HPLC-analitikai módszerekkel igazoltuk.

Méréseink szerint a legnagyobb mértékű STC-termelésre az *A. creber* 2663 törzs volt képes. Rizs szubsztráton, 27 °C-on történő inkubálás mellett a végső toxinszint meghaladta a 80 mg/kg értéket, míg kukoricán jóval kisebb, 20 mg/kg toxin produkciót tapasztaltunk. Nagytisztaságú rizs- és kukorica keményítővel végzett Scanning-elektronmikroszkópos vizsgálatok azt tárták fel, hogy a rizs- és a kukorica-keményítő fajlagos felszíne közötti különbség lehet a magyarázata a toxin expresszióban megfigyelhető eltérésnek.

Az *A. creber* 2663-törzsszel szántóföldi kukorica fertőzési kísérletet állítottunk be. A silókukoricában sikerült az STC jelenlétét kimutatni, a toxin mennyisége azonban szignifikánsan kevesebb volt, mint a kontrollként beállított aflatoxin termelő penészek esetében.

A szterigmatocisztin toxicitását biomonitring rendszerekben vizsgáltuk. Ehhez az STC és AFB1 mellett a két toxinból S9 patkánymáj kivonattal állítottuk elő az aktív epoxi-származékokat. A genotoxicitást mérő *Escherichia coli* alapú SOS-Chromotestben az aktivált AFB1 és STC genotoxicitása között nem mutatkozott szignifikáns különbség.

Az szterigmatocisztin toxicitását kéthetes brojlercsirke-élesztési tesztben is vizsgáltuk. A kísérlet végén a kontrollhoz képest az STC-vel kezelt állatoknál szignifikánsan kisebb máj- és testtömegértékeket kaptunk. Míg a lipidperoxidációs markerek szintje megemelkedett, a glutation-peroxidáz aktivitásában nem volt szignifikáns különbség.

Egy a SZIE Halgazdálkodási Tanszékén fejlesztett zebraadánió ikra toxicitási tesztben azt tapasztaltuk, hogy a metabolikusan aktivált STC nagyobb biológiai hatást fejtett ki, mint a kontroll aktivált AFB1: a DNS-törések száma duplájára nőtt és itt tapasztaltuk a legnagyobb mortalitást.

Jóllehet a szterigmatocisztin termelő penészek egyelőre nem jelentenek problémát Magyarországon, a toxin biológiai hatása az eddigi publikációkban jelzetteknél jóval veszélyesebb lehet.

A TAKARMÁNYOK, ÉLELMISZER ALAPANYAGOK MIKOTOXIN SZENNYEZÉSE ELLENI VÉDEKEZÉS GYAKORLATI LEHETŐSÉGEI A BONAFARM CSOPORTNÁL

Dr. Gergác Zoltán¹, Hajnal Annamária¹

¹ Bonafarm Zrt. Mezőgazdaság – levelezési cím: 2942 Nagygimánd, Burgert Róbert Agrár-Ipari Park 03/25 Hrsz

Az állattenyésztők évtizedek óta ismerik a mikotoxinok káros hatásait az állatok teljesítményére, szaporodására és az így okozott gazdasági kártételüket. Az utóbbi években számos tudományos publikáció jelent meg, hogy az emberi szervezet is veszélyeztetett, a táplálékkal felvett gombatoxinoktól.

A Bonafarm Cégcsoport jelentős növénytermesztési, állattenyésztési és élelmiszeripari tevékenységet folytat, ezért kiemelt fontosságú – a szigorú minőségbiztosítási rendszereinken belül – a mikotoxinok kártételének elkerülése. A 34 ezer hektáron gazdálkodó növénytermesztés kb. 130 ezer tonna gabonát állít elő, melynek jelentős részét saját állatállománnyal etetjük fel. A sertés ágazat több mint 600 ezer hízót szállít a cégcsoport vágóhidjára. A következő években – integrációs hálózattal együtt – 15 ezer koca termelésbe állítása és 720 ezer hízó előállítás a cél. A tejelő szarvasmarha állomány létszáma 6.200 db, tejtermelésük meghaladja az évi 11 ezer kilogrammot. 21 millió brojler és 10 millió pecsenye kacsza előállítás tartozik még, az állattenyésztési portfólióba. Takarmánygyártásunk meghaladja az évi 410 ezer tonnát, melynek 50 %-ka a saját állattenyésztő telepeinkre kerül kiszállításra. Takarmány-gyáraink automata mintavevőkkel és kalibrált gyorsvizsgálókkal (DON + Aflatoxin) vannak felszerelve, laboratóriumunkban a legkorszerűbb HPLC MS/MS készülékkel végezzük a toxinok vizsgálatát

Alapvető cél, hogy a mikotoxinokat távol tartsuk a takarmány-gyárainktól, a kapuból fordítsuk vissza a határérték feletti tételeket. Ennek érdekében 5 szintű vizsgálati protokollt működtetünk: **1. szezoni eleji laborvizsgálat** (az adott évjárat kockázati szintjének meghatározására) **2. szerződéselőtti vizsgálat** (vásárolt termények, ipari alapanyagok esetén) **3. átvételkori vizsgálat** (saját szánóföldről vagy külső beszállítótól érkező áru ugyanazon protokoll szerinti vizsgálata a „kapuban” – DON + Aflatoxinra beszállítónként-, illetve táblánként minden első autó, majd 200 tonnánként). **4. tételzáraskori vizsgálat** (a beszállítást követően kialakított tételek laboratóriumi vizsgálat után kerülhetnek a takarmánykeverőkbe) **5. tárolt tételek vizsgálata** (hőmérséklet hetente, laboratóriumi vizsgálat 2 havonta). Takarmányozásra nem kerülhetnek az alábbi határérték feletti tételek: DON max. 1 mg/kg; Aflatoxin B1 max. 20 µg/kg=ppb (kukorica, max. 10); Ochratoxin max. 0,25 mg/kg; Fumonizinek kukorica, cirok max. 25 mg/kg; Zearalenon max. 0,25 mg/kg; T2+HT2 toxin max. 0,25 mg/kg. *Biztonsági határértékeink sokkal szigorúbbak a jogilag meghatározott, illetve ajánlott értékeknél.*

2018-ban 6.786 db átvételkori gyorsvizsgálatot végeztünk, DON + Aflatoxinra. Visszautasításra került DON határérték túllépés miatt 15 tétel, Aflatoxin miatt 1 tétel. 2019 08.-ik hóig ebben a kategóriában 3.083 vizsgálatot végeztünk, visszautasításra került DON határérték túllépés miatt **141 tétel!** *Az eredményekből látható, hogy teljesült az a cél, „a kapuban állítsuk meg a toxinos tételeket”.*

Üzemi átadás előtt (gyors- és laborvizsgálat együtt), 1.819 esetben történt DON és Aflatoxin mérés, ebből 4 esetben volt határérték túllépés a DON toxin miatt. 2019-ben 785 mérésből, 5 DON eredmény volt kizáró. 2018 és 2019 évben, 510 Zearalenon mérésből 1 esetben találtunk határérték túllépést. Ochratoxin mérést 57, Fumanizint 94, T2-HT2 toxin mérést 46 esetben végeztünk, határérték feletti értéket nem találtunk. Minden költséget figyelembe véve, 2018 évben 46,5 millió forintot költöttünk toxinmérésekre, 2019-ben eddig 18,4 millió forintot.