TÉT\_16\_CN-1-2016-0004 *„Zöldségek és gyümölcsök biológiai úton történő tartósítása Magyarországon és Kínában, különös tekintettel az élelmiszer-biztonsági és a humán egészségügyi szempontokra”* című Magyar- Kínai Ipari Kutatás-fejlesztési Együttműködési Pályázat

**A projekt tartalma és célja**

A biológiai kontroll, mint egy alternatív, a nyersanyag romlását okozó mikroorganizmusok tevékenységét háttérbe szorító, így a romlást megelőző technológia, a kémiai tartósítószereket alkalmazó módszerek egy lehetséges kiváltója lehet. A mezőgazdasági terményekre -, amelyek az élelmiszerelőállítás alapját képezik, - jellemző a természetes és nagyszámú mikroorganizmus jelenléte, amely előidézheti a betakarított növényi rész gyors romlását, ezáltal befolyásolja annak felhasználhatóságát, tárolhatóságát és biztonságát. A betakarítást követő ún. postharvest romlás egyrészt jelentős (gazdasági) károkat okoz, amelynek csökkentése egyértelműen fontos feladat, másrészt élelmiszerbiztonsági kockázatot jelenthet az esetlegesen feldolgozott, de már fertőzött nyersanyag tekintetében.

A mezőgazdasági termények közül a zöldségek és gyümölcsök, azok magas víztartalma miatt, különösen ki vannak téve a betakarítás utáni gyors romlási folyamatoknak. Ezen romlásban nagy szerepet játszanak a különböző penészgombák, főként a *Penicillium, Botrytis, Colletotrichum, Geotrichum, Fusarium* és *Rhizopus* fajok.

Ezen romlási folyamatok megakadályozására a vegyszeres kezelés egyik alternatívája olyan biológiai tartósítási módszer alkalmazása, ahol olyan mikroorganizmusokat alkalmaznak, amelyek kifejezetten ezen romlást okozó penészek ellen hatékonyak, miközben a nyersanyag tulajdonságait nem befolyásolja, arra nincs negatív hatással.

A tejsavbaktériumok természetesen előfordulnak a növényi részeken, anélkül, hogy annak romlását okoznák, miközben káros egészségi hatásaik sincsenek. Ismert, hogy számos baktérium termelhet olyan antifungális anyagot (többek között kitinázokat), amely visszaszorítja a penészek szaporodását.

Célunk olyan mikroorganizmusok (tejsavbaktériumok, élesztők), illetve azok keverékének tudományos alapon történő szelektálása, amelyek jól alkalmazhatók növényi nyersanyagok postharvest romlásának megakadályozására.

Ezen hasznos mikroorganizmusok alkalmazásával csökkenthető a kémiai kezelés, a vegyszerek használata a tárolás során, illetve kisebb mértékű romlás következik be egy nem kezelt nyersanyaghoz képest, így a biológiai tartósítás által egy természetesebb, kezelésektől mentes tartósítás valósítható meg, csökkentve a gazdasági veszteséget és az élelmiszerbiztonsági kockázatot. A korábbi biotartósítási módszerekhez képest jelen fejlesztésünk nem csak a gyakorlati hatékonyságot tartja szem előtt, hanem a kifejtett hatás okait, hátterét, hatásmódját is vizsgálja tudományos módszerekkel, hogy a környezetben, ill. a tartósító hatásban bekövetkező esetleges változások esetén, ismerve a tartósító hatás mögötti hatásmechanizmusokat, könnyen lehessen reagálni és fenntartani a kedvező állapotot. A mikroorganizmusok biotartósításban történő alkalmazhatóságát maghatározó tulajdonságai akár törzsenként is nagymértékű eltérést mutathatnak, ezért szelekciójukhoz körültekintő kutatás szükséges. Ugyanakkor az eltérő környezeti feltételek, földrajzi körülmények között különböző mikroorganizmus fajok/törzsek fordulnak elő, amelyeknek a megszokottól eltérő körülmények közötti vizsgálatával, alkalmazásával plusz információkat és hatékonyságukban fokozott mikroorganizmusokat szelektálhatunk, amely vizsgálatokhoz a kínai és magyar fél eltérő környezeti feltételei ideálisak.

A célok eléréséhez

- Molekuláris biológiai módszerekkel vizsgáljuk kínai és magyar forrásból, környezetből származó tejsavbaktérium és élesztő törzsek kitináz-kódoló génjének jelenlétét.

- Meghatározzuk azokat a környezeti körülményeket, amelyek elősegítik, növelik a kitináz gén kifejeződését és a kitináz aktivitását.

- Kitin-kötő fehérjék (CBP) vizsgálata a szelektált mikróbáknál, azok hatása a kitináz aktivitásra, a CBP aktivitásának növelése.

- Az esetlegesen különböző penészekre ható törzsekből kevert tenyészetek kialakítása a hatékonyság növelése érdekében.

- A szelektált törzsek alkalmazhatóságának vizsgálata különböző, a projektben résztvevő partnereknek, a különböző földrajzi és kultúrális viszonyoknak megfelelő mezőgazdasági terményen, illetve élelmiszeren.

- A szelektált törzsek vizsgálata *in vitro* emésztési modellben az alkalmazhatóság igazolására.

Mind a kínai, mind a magyar fél növényi nyersanyagokról, élelmiszerekből izolál, illetve törzsgyűjteményből válogat törzseket, amelyeket szelektál azok penészgátló aktivitására, kitináz génjük jelenlétére és kitináz aktivitására. Az így válogatott törzseket további szelekciónak veti alá azok kitin-kötő fehérjéi jelenlétének és aktivitásának vizsgálata által. Az így szelektált törzsekből vegyes kultúrát alakít ki, amelyeket modellkörnyezetben, tárolási kísérlet során, zöldség-, és gyümölcs nyersanyagokon, ill. élelmiszerekben tesztel azok biológiai kontroll technológiában, biotartósításban való alkalmazhatóságára vonatkozóan.

Az első év (2017.05.01-2018.04.30.) tervezett feladatai:

1. év I. félév. A kitináz gén jelenlétének vizsgálata. Molekuláris biológiai módszerekkel vizsgáljuk kínai és magyar forrásból, környezetből származó tejsavbaktérium és élesztő törzsek kitináz-kódoló génjének jelenlétét. Mind a kínai, mind a magyar fél növényi nyersanyagokról, élelmiszerekből izolál, illetve törzsgyűjteményből válogat törzseket, amelyeket azután szelektál kitináz gén jelenlétére PCR technikával. A munkafolyamat eredménye kitináz képzésére alkalmas mikroorganizmusok szelekciója.

1. év II. félév. Kitináz termelés paramétereinek vizsgálata. A kitináz gént tartalmazó mikróba törzsek esetén mind a magyar, mind a kínai fél meghatározza azokat a környezeti körülményeket, amelyek elősegítik, növelik a kitináz gén kifejeződését és a kitináz aktivitását. A részfeladat eredményeként megismerjük a kitináz génnel rendelkező törzsek esetén a kitináz termeléséhez szükséges paramétereket, a penészgátláshoz szükséges optimális körülményeket.

**A projekt előrehaladása, jelenlegi állása**

A feladattervnek megfelelően a törzsgyűjteményünkből származó, illetve különböző élelmiszerekből izolált baktériumok esetén elvégeztük azok molekuláris biológiai módszerrel történő vizsgálatát. Egyrészt PCR módszerrel, *Lactobacillus* specifikus primer alkalmazásával igazoltuk, illetve identifikáltuk a gyűjteményből, illetve az izolálás útján nyert baktériumok *Lactobacillus* jellegét, másrészt kitináz enzim termeléséért felelős génre specifikus primer alkalmazásával szelektáltunk olyan törzseket, amelyekben megtalálható ez a gén, azaz a kitináz termelés képessége. Ez alapján hat olyan törzset találtunk, amely rendelkezik kitinázt kódoló génnel. Ugyanakkor a kísérletbe bevont *Lactobacillus* törzsek mellett élesztő, valamint *Pseudomonas* törzseket is vizsgáltunk kitináz aktivitásuk szempontjából, klasszikus mikrobiológiai módszerrel. Ehhez kitin tartalmú táptalajokat alkalmaztunk, amelyekhez kolloidális kitint is előállítottunk. Továbbá különböző terményekről, főként zöldségekről és gyümölcsökről számos penészt izoláltunk.

A nemrég indult második munkaszakaszban a bizonyítottan kitináz enzim termeléséért felelős génnel rendelkező törzsek részletesebb vizsgálatát végezzük, feltárva a körülményeket, amelyek segítik ezen gén kifejeződését, azaz kifejtik ezáltal penészgátló aktivitásuk. Meghatározzuk azokat a paramétereket, amelyek mellett ez a gátló aktivitás maximális értékű. Ugyanakkor az izolált, romlást okozó penészekkel szembeni gátló hatás vizsgálatával tovább szelektáljuk a kísérletbe bevont mikroorganizmusokat. Ebben a munkaszakaszban tervezzük három kínai kutató magyarországi fogadását az eddigi eredmények, tapasztalatok, illetve jó eredményeket mutató magyar, illetve kínai forrásból származó mikroorganizmusok cseréjének céljából.

*A* TÉT\_16\_CN-1-2016-0004 *számú projekt a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból biztosított támogatással, a* Magyar- Kínai Ipari Kutatás-fejlesztési Együttműködési Pályázat (TÉT\_16\_CN)*pályázati program finanszírozásában valósul meg.*