

**MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÉMIAI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYA**

ÉLELMISZERTUDOMÁNYI TUDOMÁNYOS BIZOTTSÁG

rendezésében

**2020. február 28-án
tartandó**

378.

TUDOMÁNYOS KOLLOKVIUM

előadásainak rövid kivonata

348. füzet

Budapest



MEGHÍVÓ

az MTA Élelmiszertudományi Tudományos Bizottság
2020. februári ülése keretében rendezett

378. Tudományos Kollokviumra

Időpont: 2020. február 28. péntek, 9.30 órákor
Helyszín: MTA Irodaház (1051 Budapest, Nádor u. 7.) fsz. 29. sz. terem

Elnök: Mohácsiné dr. Farkas Csilla

9:30 – 10:00 **Péter Gábor, Nagy Edina Szandra, Tóbiás Andrea, Dlačhy Dénes (SZIE, MIMNGY):** Élesztőgombák és élelmiszerek - szemelvények a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményének kutatási eredményeiből

10:00 – 10:30 **Kiskó Gabriella (SZIE ÉTK Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék):**
A mikrobiológiai élelmiszerbiztonság jövőbeni kihívásai

10:30 – 10:50 **Kovács Mónika, Belák Ágnes, Maráz Anna, Pomázi Andrea (SZIE ÉTK Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék):** *Saccharomyces cerevisiae* borélesztő törzsek rDNS analízise molekuláris biológiai technikákkal

10:50 – 11:20 **SZÜNET**

11:20 – 11:40 **Kocsis Tamás (SZIE ÉTK Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék):**
Mikroorganizmusok spektrometrián alapuló azonosítása - MALDI-TOF MS tapasztalatok

11:40 – 12:00 **Pázmándi Melinda (PhD-hallgató, SZIE ÉTK):** Probiotikus és fermentált élelmiszerek előállításához alkalmazott tejsavbaktériumok L+ és D-tejsavtermelésének vizsgálata

Budapest, 2020. február 17.

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

ÉLESZTŐGOMBÁK ÉS ÉLELMISZEREK - SZEMELVÉNYEK A MEZŐGAZDASÁGI ÉS IPARI MIKROORGANIZMUSOK NEMZETI GYŰJTEMÉNYÉNEK KUTATÁSI EREDMÉNYEIBŐL

Péter Gábor, Nagy Edina Szandra, Tóbiás Andrea, Dlačhy Dénes

Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteménye

Az élesztőgombák a legkorábban házasított szervezetek közé tartoznak. Az emberiség legalább 5000 éve használja kenyér, sör, bor és egyéb élelmiszerek és italok előállítására az élesztőgombákat. Élelmiszeripari jelentőségük messze meghaladja a gombák összességén belül képviselt csekély, mintegy 2%-os számarányukat. Elsősorban erjesztett élelmiszerek és italok, élelmiszeripari alapanyagok és adalékok előállítására használják őket, de egyes fajok alkalmasak lehetnek a romlást okozó mikroorganizmusok elleni biológiai védekezésre is, mások pedig probiotikus hatással rendelkeznek. Azonban az élelmiszer-ellátási lánc mentén negatív hatást is gyakorolhatnak az élelmiszerek minőségére valamint a fogyasztókra. Előidézhetik az élelmiszerek és italok romlását, élelmiszerallergének forrásai lehetnek és opportunistá patogén élesztőgomba fajok is előfordulhatnak az élelmiszerekben.

Az élesztőgombák DNS szekvencia alapú rendszertani azonosításának széleskörű elterjedése az utóbbi két évtizedben nagy előrelépést eredményezett az élesztőgombák rendszertana és biodiverzitásuk megismerése terén. A korszerű, DNS alapú rendszertani azonosítási módszerek alkalmazása még az olyan, viszonylag behatóan tanulmányozott élőhelyek, esetében is új eredményeket szolgáltatott, mint pl. az élelmiszerek.

A Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményének munkatársai által az élelmiszerekben előforduló élesztőgombák biodiverzitásának feltárásában és az élelmiszerek minőségére gyakorolt lehetséges hatásuk előrejelzésében elért néhány eredmény kerül bemutatásra az alábbi témakörökben:

- 1) *Yarrowia* fajok biodiverzitása húsookban, tejben és tejtermékekben
- 2) Olívaolaj - egy újonnan feltárt élesztőgomba élőhely
- 3) Új obligát ozmofil élesztőgomba fajok

A MIKROBIOLÓGIAI ÉLELMISZERBIZTONSÁG JÖVŐBENI KIHÍVÁSAI

Kiskó Gabriella:

Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék

Sajnos napjainkban is jelentős számban fordulnak elő élelmiszer eredetű betegségek, amelyekben a mikroorganizmusok kiemelkedő szerepet játszanak. A mikrobiológiai élelmiszerbiztonság alapvetően különbözik a kémiai élelmiszerbiztonságtól. Míg a kémiai maradványok és adalékanyagok általában többé-kevésbé kiszámítható módon lépnek be az élelmiszerláncba, a mikrobák az élelmiszerlánc bármely pontján bejuthatnak, az élelmiszerrel kölcsönhatásba lépnek, abban szaporodni képesek, esetleg elpusztulnak. A hatásaikat tekintve is különböznek a kémiai és mikrobiológiai szennyeződések. A kémiai szennyeződések, mint például a dioxinok, felhalmozódhatnak az emberi testben az évek során, és fogyasztásukat követően még sokáig befolyásolhatják a fogyasztó egészségét. Egyes élelmiszer-eredetű patogének dormansak maradhatnak bennünk bizonyos ideig, de általában napokban vagy hetekben mérhető megbetegedéseket okoznak. A mikrobiológiai és kémiai kockázatok fogyasztók általi észlelése szintén eltérő. A peszticidek maradványai, ha túllépik a megengedett határértékeket, általában nyilvános felháborodást keltenek, míg az élelmiszerekkel terjedő bakteriális és vírusos betegségeket a fogyasztók jobban elfogadják, az élet velejárójának tekintik mindaddig, amíg nem következik be halál vagy tartós károsodás.

Az előadás áttekintést nyújt az élelmiszer-biztonság új kihívásairól valamint azok lehetséges hatásairól. A globalizáció révén csökkennek a kórokozók terjedésének földrajzi akadályai. Hosszú és komplex élelmiszerláncok alakulnak ki, változó higiéniai szintekkel. A változó étkezési szokások pl. nyers vagy kevésbé hőkezelt élelmiszerek, egzotikus élelmiszerek fogyasztásának növekvő igénye, valamint az új feldolgozási trendek tovább növelhetik az élelmiszerekkel terjedő megbetegedések kockázatát. A klímaváltozás káros hatásai közül több is befolyásolja az élelmiszerbiztonságot, mint például a mikotoxinok előfordulásának megnövekedett gyakorisága az emberi táplálékláncban, a stressz adaptáció, az antibiotikum rezisztencia terjedése. Mindezek mellett számos fejlesztéssel találkozunk például az intelligens csomagoló anyagok alkalmazása területén, valamint a kórokozók gyors kimutatását lehetővé tevő bioszenzorok területén, melyek növelik az élelmiszerbiztonságot.

SACCHAROMYCES CEREVISIAE BORÉLESZTŐ TÖRZSEK rDNS ANALÍZISE MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI TECHNIKÁKKAL

Kovács Mónika, Belák Ágnes, Maráz Anna, Pomázi Andrea

Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék

A borkészítési az egész világon elterjedt, azonban egyes régiókban, többek között az alkalmazott technológiáknak, illetve a táj adottságainak köszönhetően különleges borok előállítására is lehetőség van. A Tokaji borvidéken a *Botrytis cinerea* által okozott nemesrothadás következtében, az aszúsodott szőlőfürtök/szőlőszemek felhasználásával borkülönlegességek (Tokaji aszú, Tokaji szamorodni) előállítása történik. A nemesrothadás során a szőlőbogyóban végbemenő változások stresszhatást jelentenek az erjedést végző élesztőgombáknak. Emellett a Tokaji szamorodni esetén a borok hordós érlelésekor egy *Saccharomyces cerevisiae* alkotta élesztőhártya alakulhat ki a borfelszínen. A hártyában jelenlévő sejtek oxidatív metabolizmusa hozzájárul a bor különleges karakteréhez, azonban ez további stresszhatást jelent az élesztősejtek számára. A stresszhez való adaptáció gyakran együtt jár a genom változásával.

Munkánk során a riboszómális RNS-t kódoló DNS variábilis, valamint konzervatív régiójának elemzését céloztuk molekuláris biológiai módszerekkel, hogy a *Saccharomyces cerevisiae* borélesztőkön belüli diverzitást tanulmányozzuk.

A Tokaji Szamorodni érlelése során, a borok felületén kialakult hártyából származó izolátumok faji besorolása ARDRA (amplified rDNA restriction analysis) alkalmazásával valósult meg. Ezen módszer segítségével a Sherry borok érlelésénél résztvevő hártyaképző élesztőgombák ITS1 szekvenciájára jellemző 24 bázispáros deléció meglétét is teszteltük. Az eredmények alapján feltételezhető volt különböző ITS1 allélok jelenléte egy genomon belül, amely ellenőrzésére HMA-t (heteroduplex mobility assay) alkalmaztuk. A hártyaképző Tokaji szamorodni borélesztők esetén egy genomon belül különböző allélokat tudtunk kimutatni, amely allélikus jelleg 87%-nak bizonyult. A különböző allélok szekvenciáját szekvenálással ellenőriztük, amellyel megállapítottuk, hogy az intragenomikus polimorfizmust mutató törzsek tartalmazzák a fentebb említett 24 bp-os deléciót, valamint a deléció nélküli allélt is. Az rDNS konzervatív régiójának analízise során a D1/D2 domaint jellemeztük DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) segítségével. A módszer alkalmazásával a vizsgált hártyaképző borélesztők a nem-hártyaképzőktől határozottan elkülönültek. Intragenomikus polimorfizmust ezen régió esetén is ki tudtuk mutatni. A különböző allélok meghatározására szekvenálást alkalmaztunk, amellyel öt különböző allél előfordulását lehetett meghatározni.

A módszereket összevetve, a heteroduplex mobilitási vizsgálat jól alkalmazhatónak bizonyult a különböző allélok egy genomon belüli előfordulásának megállapítására, míg a denaturáló gradiens gélelektroforézis segítségével már egy bázispárnyi eltérés is hatékonyan kimutatható volt, amely eredményeket a szekvenálás is alátámasztott.

MIKROORGANIZMUSOK TÖMEGSPEKTROMETRIÁN ALAPULÓ AZONOSÍTÁSA MALDI-TOF MS TAPASZTALATOK

Kocsis Tamás

Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék,

A mikroorganizmusok gyors azonosítására napjainkban egyre nagyobb igény mutatkozik. A klinikai elvárások mellett a globális kereskedelemnek kitett mezőgazdaságban és élelmiszeriparban egyaránt komoly szükség van a kórokozó- vagy az élelmiszerek romlását okozó mikroorganizmusok gyors azonosítására a megfelelő védekezés kidolgozása érdekében. A DNS amplifikációra (PCR) alapozott technikával szemben új megközelítés a sejtek által termelt fehérjék, tömeg alapján történő szétválasztásával történő azonosítás. A Bruker IVD MALDI Biotyper alkalmazás (az „IVD MALDI Biotyper”) feladata, hogy kiszámítsa egy ismeretlen mikroorganizmus tömegspektrometriai mintázati profilja és a referencia- könyvtárban tárolt, megfelelően jellemzett törzsek tömegspektrometriai mintázati profiljai közötti hasonlóságot. Az előkészítés során, a vizsgálandó molekulákat egy fényelnyelő „mátrixba” ágyazzuk, majd lézer impulzusokkal gerjesztjük. A minták elemzése MALDI (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization, TOF (Time- Of- Flight) tömegspektrometria segítségével történik. A MALDI-TOF tömegspektrométerben található lézer egy fókuszált, intenzív UV- fény- sorozattal besugározza a száraz mátrixcseppet. Ez a mátrix és a fehérjék gyors elpárolgásához és ép, pozitív töltésű fehérjék illetve peptidek kibocsátásához vezet (*lágú ionizáció*). Az ionokat a berendezés rövidtávon elektrosztatikusan felgyorsítja így azok a vákuum alatt lévő repülési csőbe tömegfüggő sebességgel érkeznek. Mivel a különböző fehérjék/peptidek különböző tömegűek, ionjaik különböző idő alatt jutnak el a detektorhoz (*repülési idő*). A tömegspektrométer méri a molekulák gyorsulásával járó rövid idejű lézersugárzás és az érzékelő elérésekor kapott jel között eltelt (mikroszekundum nagyságrendű) időt, és az így kapott haladási sebességből kiszámítja a molekulák pontos tömegét. A mikroorganizmusokban jelen lévő riboszómális fehérjék egy jellemző tömeg- és intenzitás- mintázatú tömegspektrumot hoznak létre. Számos mikroorganizmus esetén ez a mintázat a fajra/törzsrre jellemző, ezáltal molekuláris ujjlenyomatként (*finger print*) felhasználható a mintában található mikroba faj szintű azonosításához. Tapasztalatok alapján a technológia Achilles pontja jelenleg a vizsgálat kiértékeléséhez szükséges referencia adatbázisban szereplő tömegspektrumok korlátozott mennyisége. Míg a klinikai- és élelmiszeriparban előforduló előforduló mikroorganizmusok nagy referenciaspektrummal rendelkeznek (sok esetben törzs szintű azonosítás is lehetséges), addig más szakterületekre (mezőgazdaság, környezetvédelem) alapozott adatbázisok még kialakításra várnak.

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

KÜLÖNBÖZŐ POLIMERIZÁCIÓS FOKÚ SZÉNHIDRÁTOK METABOLIZMUSA LAKTÓZ ÉS GALAKTO-OLIGOSZACHARIDOK TEJSAVAS FERMENTÁCIÓJA SORÁN

Pázmándi Melinda

PhD hallgató

*Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar, Mikrobiológia és Biotechnológia Tanszék;
Élelmiszeripari Műveletek és Gépek Tanszék,*

A tejsavasán fermentált élelmiszerek fogyasztása bizonyítottan pozitív hatást gyakorol az emberi egészségre. A tejsavas erjedés során keletkezett anyagcseretermékek (pl. tejsav) nagyban hozzájárulnak a fermentált termékek előnyös hatásához, valamint a tejsavbaktériumok egyes fajai vagy törzsei probiotikus hatásúak, védő funkciót láthatnak el a bél mikrobiótában megjelenő patogén mikrobákkal szemben.

A probiotikus tejsavbaktériumok szaporodása a vastagbélben prebiotikus vegyületek (pl. galakto-oligoszacharidok-GOS) fogyasztásával stimulálható. A GOS előállítása laktóz szubsztrátból enzimes szintézissel történik, a szintézis melléktermékeként azonban a GOS mellett mono- és diszacharidok is képződnek. Ezek az emészthető, kevésbé értékes cukrok szénhidrátforrásként szolgálhatnak egy tejsavbaktériumokkal végzett fermentációban, mely eredményeként egy tejsavasán erjesztett, prebiotikus hatású ital hozható létre.

Tejsavas fermentáció során a tejsav két sztereo-izomerje, L(+) és D(-) tejsav keletkezik mikrobiális anyagcsere útján, melyek mennyiségét genetikai és környezeti tényezők egyaránt befolyásolják. Az L(+) laktát az emberi emésztőrendszerből felszívódva lebomlik, azonban a D(-) laktát a felszívódás után humán enzimek számára nem metabolizálható. Amennyiben az emésztőrendszerből nagy mennyiségű D(-) tejsav jut a vérkeringésbe, az a vérplazmában felhalmozódva neurotoxikus hatást fejt ki.

A bemutatott munkában kilenc tejsavbaktérium törzs glükóz és laktóz felhasználását vizsgáltuk GOS szirupot tartalmazó fermentációs közegben. Az eredmények alapján három *Lactobacillus* törzset (*Lactobacillus paracasei* PB9, *Lactobacillus acidophilus* N2 és *Lactobacillus plantarum* 2108) szelektáltunk. Ezt követően meghatároztuk a kiválasztott törzsek fermentációs profilját szaporodás kinetika, szénhidrát metabolizmus és tejsavtermelés szempontjából.

A bemutatott munka az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-3-I Kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának és a Szent István Egyetem Élelmiszertudományi Doktori Iskolája szakmai támogatásával készült.