

A penésztartalom meghatározására alkalmas módszerek III. Immunológiai és fizikai módszerek

Kiskó Gabriella

Kertészeti és Élelmiszeripari Egyetem, Mikrobiológia és
Biotechnológia Tanszék

Érkezett: 1998. október 11.

1. Immunológiai módszerek

A galaktomannánok a penészek legszélesebb körben elterjedt poliszacharidjai és alapvető részei a micélium sejtfalnak. Japán kutatók mutattak rá arra, hogy a penészmicéliumból származó galaktomannánok immunológiailag aktívak (Notermans et al., 1987). Notermans és Heuvelman (1985) figyelte meg, hogy a penészek élelmiszerekben történő növekedésekor extracelluláris poliszacharidokat bocsátanak ki az őket körülvevő környezetbe.

A penészek intra- vagy extracelluláris biopolimerjei immunológiailag aktívak (antigén hatásúak), hőstabilak, többnyire vízoldhatók, főként szénhidrátok alkotják őket néhány fehérjével, s ezért gyakran úgy utalnak rájuk, mint extracelluláris poliszacharidokra (EPS). Világossá vált, hogy a *Penicillium* és *Aspergillus* speciosek EPS-ében a β -(1,5)-D-galaktofuranozidázok az immunodominánsak, ami az antigén tulajdonságukért felelős (Kamphuis et al., 1989; Notermans et al., 1988). A *Mucorales* rendhez tartozó penész speciosekből (magába foglalva a rokon nemzetségeket is, mint *Mucor*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Syncephalastrum*, *Absidia* és *Thamnidium*) izolált preparátumok is tartalmaznak egy gyakori antigén frakciót, ezen penészcsoportra specifikus antitesteket eredményezve (De Ruyter et al., 1993). Hasonló eredményeket figyeltek meg a *Botrytis* és *Monascus* nemzetséghez tartozó penészeknél is, bár mostanáig nincs hozzáférhető információ a poliszacharidok epitópjának felépítéséről a *Penicillium* és *Aspergillus* nemzetségen kívül. Tehát a penészek által képzett EPS-ek ellen termelt antigének nemzetség specifikusak, vagy csak a közeli rokonságba tartozó fajokkal lépnek reakcióba (Cousin et al., 1990; Tsai és Cousin, 1990). 45 tesztelt fajból 43 képzett azonos antigént a *Penicillium* nemzetségen belül (Notermans et al., 1986). A penészek antigén képzését különböző növekedési körülmények között vizsgálva megfigyelték, hogy az antigének termelése összefügg a micélium tömeggel, s a tápközeg típusa nem befolyásolja az antigén termelést. A felületi és szubmerz tenyésztés estén szintén nincs különbség. Sem az inkubációs

hőmérsékletnek, sem a vízáktivitásnak nincs szignifikáns hatása az antigén termelésre.

Shapira és munkatársai (1997) poliklonális antitesteket fejlesztettek ki aflatoxin termelő *Aspergillus parasiticus* törzs ellen. A módszer legfőbb előnye magas specifitása. Az antitesteket az aflatoxin bioszintézisében szereplő enzimek ellen fejlesztették ki.

1.1. ELISA kit-ek

A különböző penész EPS preparátumok ellen képzett IgG antitestek felhasználásával szendvics ELISA-kat fejlesztettek ki *Penicillium* és *Aspergillus*, *Mucor* és *Rhizopus*, *Botrytis* és *Monascus*, *Cladosporium* és *Alternaria* nemzetségbe tartozó penész fajok detektálására (Notermans et al., 1986; Cousin et al., 1990).

Elsőként Notermans és munkatársai (1986) fejlesztettek ki *Aspergillus* és *Penicillium* speciesektől származó antigének meghatározására alkalmas ELISA-t. Száztizennyolc véletlenszerűen kiválasztott élelmiszer mintát (fűszereket, gyógynövényeket, jam-eket, gyümölcs leveket, cereáliákat, kakaóporokat stb.), valamint a *Penicillium expansum* patulin és antigén termelését vizsgálták Golden Delicious almában. A penész antigén gyakran kimutatható volt fűszerekben valamint malomipari termékekben, kakaóporban és állati eledelék összetevőiben. Az aflatoxin B1 tartalmú minták tesztelését is elvégezték. Minden minta pozitív ELISA reakciót adott, azaz az *Aspergillus* és *Penicillium* speciesek által képzett penész antigén minden aflatoxin B1-et tartalmazó mintában jelen volt. A *Penicillium expansum*mal inokulált alma tesztje azt mutatta, hogy a penészek antigén termelése összefügg a penészszámmal. Patulin termelés csak a vizuálisan látható rothadás után volt megfigyelhető. Az ELISA pozitív eredményt adott a növekedés nagyon korai fázisánál. Az eredmények azt mutatták, hogy az ELISA érzékeny és megbízható módszer a penészek detektálására élelmiszerekben, különösen azok növekedésének korai fázisában és alkalmas az élelmiszerek penész-szennyezettségének tesztelésére, akár hőkezelt, akár hőkezeletlen termékről van szó.

A Howard-penészsám helyettesítését célozva paradicsom termékek penészszámaának meghatározására is fejlesztettek ki kereskedelmi forgalomban kapható immunológiai kit-et (Lin et al., 1986). A kifejlesztett dupla szendvics ELISA 3 paradicsomot szennyező penész (*Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum* és *Rhizopus stolonifer*) antigénje ellen képzett antitesteket tartalmaz. A 3 species közötti kereszt-reaktivitás kisebb volt, mint 10%. Az eljárás érzékenysége nagyobb, mint a leggya-

koribb kémiai módszereknél. Pozitív kapcsolat volt az ELISA titer és a püréhez adagolt penész mennyisége között, míg a háttér ELISA értékek a kontrol pürében elhanyagolhatóak voltak.

Tsai és Cousin (1990) tejtermékek penésztartalmának detektálására fejlesztettek ki ELISA kit-et. Az eredmények azt mutatták, hogy a penészek 2 napon belül, a látható penésznövekedés megjelenése előtt detektálhatók Cheddar sajtban, túróban és joghurtban.

A lemezöntéses penészsám és az ELISA módszer eredményeit hasonlították össze Notermans és munkatársai (1988) dió és fűszerek esetén. A vizsgálatok során *Penicillium* és *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus* és *Cladosporium* nemzetségek detektálására alkalmas ELISA kit-et használtak. A penész számokat három táptalajon (dichloran rose-bengal medium, dichloran glycerol medium, malt extract medium) határozták meg. Kimutatták, hogy a teszt megbízhatósága specifikus gátlással növelhető. A gátláshoz specifikus cukor származékokat adagoltak a negatív ELISA reakciót mutató, vélelmezetten pozitív mintákhoz.

1.2. Latex agglutinációs tesztek

Egy gyors és megbízható penész detektálási módszer, a latex agglutinációs teszt leírását adták közre Kamphuis és munkatársai (1989). Latex gyöngyöket vontak be *Penicillium digitatum* extracelluláris poliszacharidja ellen képzett IgG antitestekkel. Az azonos faj tisztított extracelluláris poliszacharidjának 5-10 ng/ml mennyisége már detektálható a teszttel, ami az ELISA érzékenységéhez hasonló, ahol a minimális detektálható mennyiség 6 ng/ml (Notermans et al., 1986). Huszonöt különböző penészgomba kultúra szűrletének analízise azt mutatta, hogy pozitív reakció csak a *Penicillium* és *Aspergillus* nemzetség tagjai esetén volt megfigyelhető. A teszt alkalmazhatóságának vizsgálata fűszer és dió minták felhasználásával történt. Ez a vizsgálati forma, sokkal megfelelőbb az élelmiszeripari gyakorlat számára, mert az agglutináció vizuálisan, drága laboratóriumi készülékek nélkül megfigyelhető. A latex agglutinációs teszt érzékenysége valamelyest kisebb, mint a szendvics ELISA-é, de kielégítő eredményt nyújt 10-20 percen belül.

Élelmiszerek *Aspergillus* és *Penicillium* tartalmának detektálását végezték el latex agglutinációs teszttel 9 különböző laboratóriumban. A vizsgálatok eredményéről Notermans és Kamphuis (1990) számolt be. A teszt *Aspergillus* és *Penicillium* extracelluláris poliszacharidjaira specifikus immunglobulinokkal érzékennyé tett latex részeket tartalmaz. A teszt megbízhatósága kontroll reagens használatával növelhető, amelyben az

immunglobulinok specifikusan blokkoltak. A kontroll reagens használatával a téves pozitív eredmények kiszűrhetők. A téves pozitív eredmények szintetikus heptánnal érzékennyé tett latex részek felhasználásával ismerhetők fel. Ezek a heptánok speciálisan blokkolják a latex részeken jelenlevő immunglobulinokat. Téves negatív eredményeket akkor kaphatunk, ha a teszt kivitelezése nem megfelelő, illetve ha az EPS enzimatikusan lebontódott vagy irreverzibilisen kötődik bizonyos élelmiszer komponensekhez. Ilyen enzim, mint pl. a β -galaktofuranozidáz, a *Penicillium* és *Aspergillus* speciestek által képzett EPS antigének immunológiai aktivitását megszünteti (Cousin et al., 1989). Notermansék tiszta EPS-t használtak a téves negatív eredmények kiküszöbölésére. Ha a teszt eredménye a tiszta EPS hozzáadása után is negatív, a minta nem alkalmas a tesztelésre. A latex-vizsgálat mellett az együttműködő laboratóriumok saját módszereiket is alkalmazták az élelmiszerek penésztartalmának meghatározására. A 9 laboratórium közül 8 használta az élőpenész-számot (7 különböző táptalajt alkalmazva). 8 laboratórium volt képes tisztított EPS felhasználásával 5-15 ng/ml tartományban penészeket detektálni. A vizsgált élelmiszerek között Notermansék (1986) tapasztalataihoz hasonlóan a cereáliák, állati eledelék és fűszerek mutattak korrelációt az élőpenész-szám és a latex agglutinációs titer között, ahol a domináns mikroflórát *Penicilliumok* és *Aspergillusok* alkották. Más termékeknél – mint pl. gyümölcslevek esetén, ahol más nemzetségek lehetnek a dominálók – korreláció nem volt megfigyelhető. Diónál pedig nyilvánvalóan téves pozitív eredményeket kaptak. Az eredmények alapján az *Aspergillusok* és *Penicilliumok* detektálására alkalmas latex agglutinációs tesztet gyors, egyszerű és megbízható módszernek ítélték cereáliák, fűszerek és állati eledelék *Aspergillus* és *Penicillium* tartalmának detektálására.

Karman és Samson (1992) szintén az élőpenész-számot és az *Aspergillusok* és *Penicilliumok* detektálására alkalmas latex agglutinációs tesztet hasonlították össze 7 laboratórium közreműködésével. Ötszáz élelmiszermintát vizsgáltak meg. Jó korrelációt találtak pasztöröztetlen gyümölcslé és -pulp, lekvár és liszt esetén az élőpenész-szám és a latex agglutinációs titer között. A hőkezelt termékekben nem volt korreláció az élőpenész-szám és a latex agglutinációs titer között; ugyanakkor az élettelen penészek magas titere a latex tesztel detektálható volt. A teszt alkalmatlannak bizonyult sajtok és dió vizsgálatára.

Van der Horst és munkatársai (1992) két kereskedelembe kapható latex agglutinációs teszt összehasonlítását végezték el. Mindkét kit *Aspergillus* és *Penicillium* antigének detektálására alkalmas. A vizsgálatok során 59

élelmiszermintát analizáltak. Összehasonlítás céljából az élőpenész-számok meghatározását is elvégezték. A Mould Reveal kit alapján az 59 vizsgált mintából 57-et ítélték pozitívnak, míg HBT kit-el csak 42-t. A Mould Reveal kit reakcióba lépett a *Cladosporium*, *Botrytis* és *Wallenia* nemzetséggel éppúgy, mint az *Aspergillus* és *Penicillium*-al. Feldolgozott, s többnyire pasztőrözött paradicsom termékekre a Mould Reveal kit pozitív eredményeket adott, míg a HBT kit negatívát.

Braendlin és Cox (1992) a **Pastorex *Aspergillus* teszt (PAT)** és egy **(mould) látex agglutinációs teszt (MLAT)** értékelését végezték el számos nyers és feldolgozott szárított élelmiszernél. Ötven minta aflatoxin B és G tartalmát is meghatározták kémiai módszerrel. A minták közül 14 nem mutatott immunreakciót, de 22 mintánál az agglutinációs titer tartománya 1:10-től 1:7290-ig terjedt, jelezve azt, hogy a jelentős szennyezettségű minták a látex agglutinációs teszttel detektálhatók a feldolgozást megelőzően. A nyersanyagok közül 68 minta mutatott pozitív korrelációt a látex agglutinációs titer és az élőpenész-szám között. Nyolc minta (20-1000 közötti élőpenész-számmal) nem adott detektálható agglutinációs titer értékeket, még ha *Aspergillus* és *Penicillium* volt is a domináns izolált nemzetség. Korrelációt állapítottak meg mind az MLAT mind, a PAT titer és az aflatoxin szint között. Kísérleteik alapján úgy ítélték, hogy mivel a látex agglutinációs teszt mind az élő, mind a holt penész-biomasszát képes kimutatni, azok alkalmasak az élelmiszerek *Aspergillus* és *Penicillium* szennyeződésének vizsgálatára és előzetes screenelésre az aflatoxin vizsgálatokhoz.

Yong és Cousin (1995) nem specifikus ELISA-t fejlesztett ki élelmiszerek penésztartalmának detektálásra. Hat gyakori penész (*Aspergillus versicolor*, *Cladosporium herbarium*, *Geotrichum candidum*, *Mucor circinelloides*, *Penicillium chrysogenum*) keveréke ellen képeztek antitesteket. Ezek az antitestek az említett törzseken kívül 10 penész-törzsszel lépnek reakcióba, de az élesztőkkel nem. Tejipari termékek (pl. tej, joghurt) esetén a citrát-puffer volt a legalkalmasabb a penészek extrakciójára a termékből, valószínűleg azért, mert szuszpendálta a kazeint és így megakadályozta, hogy a kazein a mikrotiter-lemezhez kötődjön és gátolja az antigén antitest reakciót. Más termékek vizsgálatakor (pl. fűszerek, különböző típusú sajtok) magas ELISA értékeket kaptak, ami egyrészt azt jelzi, hogy azok a vizsgálatot megelőzően jelentősen szennyeződtek penészekkel, másrészt azt, hogy a szennyeződést alkotó mikroflóra jól detektálható a keverék antitestekkel.

A kitin immunológiai meghatározására is folynak kísérletek. *Choanephora cucurbitarum*ból izolált kitinázt használtak poliklonális

antiszérum előállítására. Indirekt antikitináz fluoreszcens-tesztet végeztek a különböző növekedési fázisban levő penészgomba enzimjének detektálására. Poliklonális antitesteket fejlesztettek ki a kitin meghatározásához, amit egy immunoperoxidáz festési technikában használtak fel emberi és állati szervezetekre patogén gombák meghatározására (*Aspergillus fumigatus*, *Blastomyces dermatitidis*, *Candida albicans*, *Neurospora crassa*, *Pneumocystis carinii* és *Rhizopus* speciemek) (Cousin, 1996).

Az immunológiai módszerek lehetővé teszik a termék gyors, rutinszerű vizsgálatát, de a meghatározás penészgomba-nemzetség- vagy -család-specifikus. Ezért, ha egy élelmiszer teljes penészbiomassza-tartalmát kívánjuk meghatározni, a különböző speciemekre alkalmas teszteket együttesen kellene használnunk. Nagymértékű specifikusságuk és a tesztek ára nehezíti elterjedésüket. Az ergoszterin vizsgálathoz hasonlóan lehetővé teszi a penész-szaporodás detektálását a növekedés kezdeti szakaszában is, így prediktív jelleggel felhasználható a mikotoxin-szintézis előrejelzésére.

2. NIR és FTIR-PAS technika

A NIR technika alkalmazása 30 évvel ezelőtt kezdődött gabonamagvak víztartalmának meghatározására alkalmas műszer kifejlesztésével. Azóta számos élelmiszer, pl. gabonafélék, húskészítmények, tejtermékek, gyümölcs- és zöldségfélék vizsgálatára használják. A NIR spektrum adott minta abszorpciós vagy transzmissziós tulajdonságait írja le az 1000-2500 nm hullámhossz tartományban, mely az analizált anyag molekuláris összetételét tükrözi. Ez magában foglalja az O-H (víz), az N-H (fehérje) és C-H (olajok, szénhidrátok stb.) kötések alaprezgéseinek felharmonikusait és kombinációit. Az abszorpció mértéke egy adott hullámhossznál arányos a kémiai összetevő koncentrációjával. A kémiai összetevők abszorpciós sávjai a gyakorlatban erősen átlapolódnak, így a minta spektruma nagyon komplex. A kialakult jel a fényszóródás (a részecskék mérete, formája, törésmutatója, tömörítettsége stb.) és a kémiailag abszorbeált energia eredménye a mintában. Az élelmiszerek kémiai komplexitása miatt matematikai modellezésre van szükségünk ahhoz, hogy megkapjuk a NIR spektrum és a más (referencia) analitikai módszerekkel mért kémiai összetétel közötti összfüggést a mintában. A kalibráció kivitelezése statisztikai módszerekkel történik. A kalibráció elkészítése után a modell használható az összetevők koncentrációjának meghatározására új, ismeretlen mintákban.

Biológiai anyagok összetevőinek sikeres NIR vizsgálataiból kiindulva Asher és munkatársai (1982) vizsgálták a módszer alkalmasságát patogén

gombák spóraszámának gyors meghatározására. A minták NIR spektrumát az 1100-2500 nm hullámhossztartományban rögzítették. Ismert spóraszámú standard koncentrációjú alapszuszpenzióból hígítási sort készítettek, s a tagok spórakoncentrációját haemocitométeren meghatározták. A hígítási tagok 0,5 ml-ét üveg mikro-szálalaskra vitték. Minden sorozathoz vak mintát is készítettek. A szűrőket 40 °C-on 12 óráig szárították, majd lehűtötték és desszikatorban tárolták a NIR analízis megkezdéséig. Három hullámhosszon mért spektrum-érték adta a legjobb többszörös korrelációt a haemocitométeren számolt spórapopulációval. A kiválasztott három hullámhossz a következő volt: 1900 nm, ahol a karboxil csoport, 2252 nm, ahol a hidroxil csoport és 2308 nm, ahol a kitin adszorbeálódik erősen. Kilencnél nagyobb korrelációs koefficiens érték el minden vizsgált gomba esetén a NIR készülékkel a becsült és a haemocitométerrel kapott spóraszám között.

Széna penésztartalom mennyiségi meghatározásának NIR modelljét fejlesztették ki Roberts és munkatársai (1987). Referencia módszerként kémiai kitintartalom meghatározást (glükózamintartalomban kifejezve) és vizuális becslést alkalmaztak. A mintákat 60 °C-os 16 órás szárítást követően megőrölték és a spektrumokat 1100 és 2500 nm hullámhossz tartományban vették fel. A porított glükózamin spektrumát szintén rögzítették. Az optimális kalibráció során szelektált karakterisztikus hullámhosszak a következők voltak: 1630, 2114, 2246 és 2356 nm. Kettő – a szelektált hullámhosszak közül – jelen volt a glükózamin spektrumában is. Jó korrelációt kaptak a kémiai és a NIR kitintartalom meghatározás között ($R=0,95$). Sőt, a NIR által becsült kitintartalom és a vizuálisan becsült penésztartalom között is jó volt a korreláció ($R=0,86$).

Davies és munkatársai (1987) bevezető vizsgálatokat végeztek paradicsompüré penésztartalmának meghatározására. Ismert tömegű penészt és homogenizált paradicsompürét keverték össze és ezt extrahálták. A szárazanyagot kávédarálóban megőrölték. Az adagolt micélium mennyiséget úgy állították be, hogy az 7-130 g/g minta glükózamin szintnek, illetve 20-100 % Howard szám tartománynak feleljen meg. Második mintasorozatként természetes úton megpenészesedett és penészmentes paradicsomot keverték össze úgy, hogy különböző szennyeződési szinteket kapjanak. A keverékeket fagyasztva szárított formában használták fel az analízishez. A paradicsom és penész alapspektruma között világos különbség volt. A hozzáadott micélium tömegének becslésére szolgáló egyenlet kialakításához regresszióanalízist használtak. A paradicsom penésztartalmának becslésére szolgáló

egyenlethez szelektált hullámhosszak 1692, 1716, 2224 és 2346 nm voltak. A legmagasabb korreláció $R=0,97$ értéket vett fel.

Roberts és munkatársai (1991) penésszel szennyezett árpa NIR vizsgálatát végezték el. Referenciai módszerként most is, mint korábban (Roberts et al., 1987) a glükózamin-tartalom meghatározását elvégezték és vizuális becslést alkalmaztak. A 2. derivált spektrumokat használták fel az optimális kalibrációs egyenes felállításához. Öt hullámhosszat (1610, 1742, 2094, 2156, 2356 nm) szelektáltak a természetes és mesterséges mintapopuláció alapján. Ezek közül a 2094 és 2356 jelen vannak a glükózamin 2. derivált spektrumában. A glükózamin-tartalom korrelált mind a micélium-, mind a spóratartalommal szennyezett árpában ($R=0,86$ és $R=0,85$).

Aramaki és munkatársai (1995) kísérletet tettek gombamicélium karakterisztikus hullámhosszának megállapítására. Koji rizs-micélium tömegének becslését végezték el NIR technikával. A legpontosabb kalibrációt többszörös lineáris regresszióval kapták a 2. derivált spektrumok felhasználásával. Négy karakterisztikus hullámhosszt szelektáltak (1724, 1760, 2308 és 2348 nm) köztük a 2348 nm a micélium zsírtartalmára jellemző. 0,988 többszörös korrelációs koefficienszt kaptak, s a kalibráció standard hibája 0,496 volt.

Japán kutatók automata válogató berendezést fejlesztettek ki a penészes dió elkülönítésére (Kawano és Iwamoto, 1995). A mintákat transzmissziós üzemmódban vizsgálták 500-tól 1500 nm hullámhossz tartományban. Úgy találták, hogy a 700 és 1100 nm-nél mért transzmittancia értékek hányadosa összefügg a penész-szennyezettség fokával, azaz, az arány csökken a penészesesség fokával. A kereskedelmileg is kapható berendezés kb. 100 kg dió átválogatására alkalmas óránként.

Újszerű módszer a gabonák penész-szennyezettségének vizsgálatára a Fourier transform infrared-fotoakusztikus spektroszkópia (FTIR-PAS). A FTIR-PAS azonos információt nyújt, mint a hagyományos IR (infrared) spektroszkópia, de nem korlátozza a minta átlátszatlansága. Ezzel a módszerrel követték nyomon gombák növekedését szilárd fázison Greene és munkatársai (1988). Tisztított protein, foszfolipid és szénhidrát egyenlő arányú keverékének spektrumából a *Phanerochaete chrysosporium* spektrumával durván megegyező spektrumot nyertek. Mindkét spektrumban erős amid I és amid II abszorpció volt megfigyelhető. Az amid I abszorpció alapján tapasztalati standard görbét vettek fel. Amikor az amid I abszorpció értékéből kiszámították a gomba száraztömegét, felhasználva a standard görbét, akkor rendkívül hasonló görbét kaptak a Lowry protein vizsgálat

eredményei alapján felrajzolt görbéhez. A leírt módszer és berendezések 1-2 mg gomba szárazanyagot volt képes detektálni szubsztrátonként. Gordon és munkatársai (1997) kukoricaszemek felületének letapogatására és *Aspergillus flavus* szennyezettség detektálására használták az FTIR-PAS módszert, amely elősegíti az aflatoxin tartalmú gabona megkülönböztetését a silóba való betárolás során. Az *Aspergillus flavus* fertőzöttség kvantitatív vizsgálatára a magok UV fényben történő zöldessárga fluoreszcenciáját (BGYF) használták vizuális megfigyelés alapján. A FTIR-PAS spektrumot vákuum szárított magok analízisével kapták. A metilén-, karbonil- és amid-II-sávok változását vizsgálták. Az *Aspergillus flavus*-szal szennyezett BGYF pozitív magok spektrumában általában a következő változások voltak megfigyelhetők: csúcs eltolódás az NH₂-csoportok számának növekedése miatt, fehérje növekedés a gomba növekedése következtében; CH₂ csúcs arány növekedése (korábbi tanulmányok azt mutatták, hogy ez az arány növekszik a penész növekedéssel); abszorpciós csúcs emelkedés a COOH tartományban (ez volt az egyik legfigyelemreméltóbb változás az *A. flavus*-szal fertőzött mintáknál) valószínűleg a fertőzött gabona aminosav szintjének emelkedése következtében; amin-csúcs növekedés; növekvő CO₂ fejlődés; a karbonil csúcs csökkenése a lipid fogyasztás miatt; fehérje (amid II) növekedés a minta gomba fehérjetartalom növekedésével; csúcs eltolódás a megváltozott észter koncentráció miatt a fertőzetlen magokban; szénhidrát csökkenés a fertőzött magokban, valamint a szénhidrát csúcsok élesedése. A tapasztalt változások alapján egy számítógépes modellt hoztak létre, mely segítségével a gabonaminták osztályozhatók. Valamennyi, a vizsgálat során *A. flavus*-szal szennyezett mintát megfelelően tudták osztályozni a kialakított sémával.

Irodalomjegyzék

- ARAMAKI, I., FUKUDA, K., HASHIMOTO, T., ISHIKAWA, T. és KIZAKI, Y. (1995): Near infrared diffuse reflectance spectrophotometric analysis of mycelial weight in rice koji and search for characteristic wavelength for mycelia. *J. Soc. Fermentation and Bioengineering*, **73**, 33-36.
- ASHER, M.J.C., COWE, I.A., THOMAS, C.E. és CUTHBERTSON, D.C. (1982): A rapid method of counting spores of fungal pathogens by infrared reflectance analysis. *Plant Pathology*, **31**, 363-371.
- BRAENDLIN, N. és COX, L. (1992): Immunoagglutination assay for rapid detection of *Aspergillus* and *Penicillium* contamination in food. *Modern Methods in Food Mycology*, eds Samson, R.A., Hocking, A.D., Pitt, J.I. és King, A.D. 233-240. Amsterdam, Elsevier.

- COUSIN, M.A., NOTERMANS, S., HOOGERHOUT, P. és BOOM, J.H. (1989): Detection of β -galactofuranosidase production by *Penicillium* and *Aspergillus* species using 4-nitrophenil β -D-galactofuranoside, *J. Appl. Bacteriol.*, **66**, 311-317.
- COUSIN, M.A., DUFRENNE, J., ROMBOUTS, F.M. és NOTERMANS, S. (1990): Immunological detection of *Botrytis* and *Monascus* species in food. *Food Microbiol.* **7**, 227-235.
- COUSIN, M.A. (1996): Chitin as a measure of mold contamination of agricultural commodities and foods. *J. Food Prot.* **59**, (1), 73-81.
- DAVIES, A.M.C., DENNIS, C., GRANT, A., HALL, M.N. és ROBERTSON, A. (1987): Screening of tomato puree for excessive mould content by near infrared SPECTROSCOPY: a preliminary evaluation. *J. Sci. Food Agric.* **39**, 349-355.
- DE RUITER, G.A., KAMPHUIS, H.J., NOTERMANS, S.H.W., van BOOM, J.H. és ROMBOUTS, F.M. (1993): The development of immunoassays for rapid detection moulds. *Developing Agricultural Biotechnology in the Netherlands*, Pudoc., Wageningen, 254-262.
- GORDON, S.H., SCHUDY, R.B., WHEELER, B.C., WICKLOW, D.T. és GREENE, R.V. (1997): Identification of Fourier transform infrared photoacoustic spectral features for detection of *Aspergillus flavus* infection in corn. *Int. J. Food Microbiol.* **35**, 179-186.
- GREENE, R.V., FREER, S.N. és GORDON, S.H. (1988): Determination of solid-state fungal growth by Fourier transform infrared-photoacoustic spectroscopy. *FEMS Microbiol. Let.* **52**, 73-78.
- KAMPHUIS, H.J., NOTERMANS, S., VEENEMAN, G.H., VAN BOMM, J.H. és ROMBOUTS, F.M. (1989): A rapid and reliable method for detection of molds in foods: using the latex agglutination assay. *J. Food Prot.* **52**, 244-247.
- KARMAN, H. és SAMSON, R.A. (1992): Evaluation of an immunological mould latex detection test : a collaborative study. *Modern Methods in Food Mycology*, eds. Samson, R.A., Hocking, A.D., Pitt, J.I. és King, A.D. pp. 229-232., Amsterdam, Elsevier.
- KAWANO, S. és IWAMOTO, M. (1995): Overview of novel applications of near infrared spectroscopy for the food INDUSTRY in Japan. *Leaping ahead with near infrared spectroscopy*, eds. Batten, g.d., Flinn, P.C., Welsh, L.A. és Blankeney, A.B. pp. 272., North Melbourne, NIR Spectroscopy Group, Royal Australian Chemical Institute.
- LIN, H.H., LISTER, R.M. és COUSIN, M.A. (1986): Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of mould in tomato puree. *J. Food Sci.* **51**, 180-183, 192.
- LIN, H.H. és COUSIN, M.A. (1987): Evaluation of enzyme-linked immunosorbent ASSAY for detection of molds in foods. *J. Food Sci.* **52**, 1089-1094.

- NOTERMANS, S. és HEUVELMAN, C.J. (1985): Immunological detection of moulds in food by using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); preparation of antigens. *Int. J. Food Microbiol.* **2**, 247-258.
- NOTERMANS, S., HEUVELMAN, C.J., VAN EGMOND, H.P., PAULUSCH, W.E. és BESLING, J.R. (1986): Detection of mould in food by enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Food Prot.* **49**, 786-791.
- NOTERMANS, S., WIETEN, S., ENGEL, H.W.B., ROMBOUITS, F.M., HOOGERHOUT, P. és BOOM, J.H. (1987): Purification and properties of extracellular polysaccharide (EPS) antigens produced by different mould species. *J. Appl. Bact.* **62**, 157.
- NOTERMANS, S., DUFRENNE, J. és SOENTORO, P.S. (1988): Detection of moulds in nuts and spices: the mould colony count versus the enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). *J. Food Sci.* **53**, (6), 1831-1833, 1843.
- NOTERMANS, S. és KAMPHUIS, H. (1990): Detection of moulds by latex agglutination: a collaborative study. *Food Agr. Imm.* **2**, 37-46.
- ROBERTS, C.A., MOORE, K.J., GRAFFIS, D.W., WALGENBACH, R.P. és KIRBY H.W. (1987): Quantification of mould in hay by near infrared reflectance spectroscopy. *J. Dairy Sci.* **70**, 2560-2564.
- ROBERTS, C.A., MARQUARDT, R.R., FROHLICH, A.A., MCGRAW, R.L., ROTTER, R.G. és HENNING, J.C. (1991): Chemical and spectral quantification of mould in contaminated barley. *Cereal Chemistry*, **68**, (3), 272-275.
- ROBERTS, C.A., MOORE, K.J., GRAFFIS, D.W., WALGENBACH, R.P. és KIRBY H.W. (1987): Quantification of mould in hay by near infrared reflectance spectroscopy. *J. Dairy Sci.* **70**, 2560-2564.
- SHAPIRA, R., PASTER, N., MENASHEROV, M., EYAL, O., METT, A., MEIRON, T., KUTTIN, E., és SALOMON, R. (1997): Development of polyclonal antibodies for detection of aflatoxigenic molds involving culture filtrate and chimeric proteins expressed in *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, (3), 990-995.
- TSAI, G.J. és COUSIN, M.A. (1990): Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of moulds in cheese and yoghurt. *J. Dairy Sci.* **73**, 3366-3378.
- VAN der HORST, M., SAMSON, R.A. és KARMAN, H. (1992): Comparison of two commercial kits to detect moulds by latex agglutination. *Modern Methods in Food Mycology*, eds Samson, R.A., Hocking, A.D., Pitt, J.I. és King, A.D. 241-245. Amsterdam, Elsevier.
- YONG, R.K. és COUSIN, M.A. (1995): Nonspecific enzyme-linked immunosorbent assay for molds in foods. *J. Food Sci.* **60**, (6), 1357-1363.

A dolgozat a Lánzos Kornél - Szekfű Gyula Alapítvány támogatásával készült.