

**Aflatoxin termelő Aspergillus fajok érzékenysége
különböző illóolaj kezelésekre in vitro**
**The sensitivity of aflatoxin-producing Aspergillus species
of various essential oil treatments in vitro**

**TÓTH ESZTER¹, KOCSUBÉ SÁNDOR², BARCS ISTVÁN¹, NÉMETH SAROLTA¹,
BURGETTINÉ BÖSZÖRMÉNYI ERZSÉBET¹**

¹Semmelweis Egyetem, Egészségtudományi Kar, Epidemiológiai Tanszék, Budapest

²Szegedi Tudományegyetem Természettudományi Kar, Mikrobiológiai Tanszék

Összefoglalás: Illóolajok gombaellenes hatását vizsgáltuk aflatoxin termelő Aspergillus fajokon. Borsmenta, rozmaring és indiai citromfű illóolajának tömény (100%) és hígított (50%, 25%) adagjaival történő kezelésének hatását vizsgáltuk a következő mikotoxint termelő Aspergillus fajokon: *A. parasiticus* és *A. pseudonimus*.

Az Aspergillus fajokat a Szegedi Tudományegyetem Mikrobiológiai Tanszékétől kaptuk. Az illóolajokat gyártási engedéllyel rendelkező kereskedelmi egységben vásároltuk. Az illóolajok gombaellenes hatását két módszerrel teszteltük. Az illóolaj zárt gőztérbe juttatásával és a gomba táptalajban történő keverésével. Három párhuzamos és egy kontroll törzset alkalmaztunk. A gomba fonalakat a szilárd gomba táptalajba szúrtuk, nem túl mélyen steril oltótűvel, majd 28°C-os termosztátba helyeztük. A telepek átmérőjét a 24, 72, és 120. órában mértük le.

Azt kívántuk igazolni, hogy a különféle illóolajok eltérő mértékben, de mind rendelkeznek gombaölő hatással, valamint, hogy a hatás az olaj töménységével egyenes arányban változik. A két módszer közül a táptalajba jutott illóolaj hatásosabb, mint az illóolaj párlata. A kísérleteink célja annak az alátámasztása, hogy az illóolajoknak van helye az élelmiszeriparban és alkalmasak különböző élelmiszerek tartósítására. Más kutatásokban vizsgált mikrobaellenes hatás mellett, a különböző illóolajok gombaellenes hatását is érdemes feltérképezni

Kulcsszavak: aflatoxin, Aspergillus, illóolaj, élelmiszertartósítás, gombaellenes

Abstract: We examined the effect of essential oils on the Aspergillus fungi species.

We investigated essential oils of peppermint, rosemary and Indian lemongrass's effect, when we treated them with these Aspergillus species: *A. parasiticus* and *A. pseudonimus*. We used concentrated and diluted essential oils. We received the Aspergillus species from the University of Szeged's Department of Microbiology. We bought the essential oils from commerce that possesses manufacturing authorization. We tested the essential oils' antimycotic effect with two different methods: the essential oils in a closed vaporspace or mixing to the substratum. We used three parallel and one control stock. We inserted the moulds into the solid substratum with steril needle there after than inserted the samples into a thermostat, where the temperature was 28°C. We measured the diameter of colonies in the 24, 72 and 120 hours.

We would like to prove the essential oils have varying degrees effect of antimycotic and the effect change with the oils' concentrated. Finally mixing the oils into the substratum method is more effective.

The experiment was aimed to support that essential oils have place in the food industry and we can use them in various food preservation. Other studies examined the effect of antibacterial however their effect of antimycotic is worth to examine.

Key words: aflatoxin, antimycotic, Aspergillus, essential oil, foodpreservation

Bevezetés

A gyógynövényekben található értékes illóolajok többkomponensű elegyekből állnak, melyek széles körű felhasználást biztosítanak. Jótékony tulajdonságaikra már az ókorban felfigyeltek, szépítkezés mellett gyulladáscsökkentő, fájdalomcsillapító, úton derítettek fényt, melyben jelentős szerepe volt a füves asszonyoknak.

A szintetikus kémia térhódításával gyógyászati használatuk háttérbe szorult, de fertőtlenítő görcsoldó stb. hatásukat sikerült igazolni. Napjainkban a műszeres analitikai technikák fejlődésével (gázkromatográfia, tömegspektroszkópia és HPLC) felértékelődött az illóolajok komponenseihez köthető pontos hatások tanulmányozása. Miért is kerültek ezek az értékes anyagok újból terítékre? A válaszok között szerepel a XXI. század egyik legnagyobb kihívása, többek között a mikrobák és a rovarok kémia vegyületekkel szembeni fokozott ellenállása. Fokozatos alkalmazkodásuk oda vezetett, hogy csökken a bevethető készítmények száma. A genetikai anyagaikban és biokémiai szintjeiken olyan gyorsan zajlanak a változások, hogy mire egy új készítmény „gyógyszer, vegyszer” megkapja a felhasználáshoz a zöld utat a rezisztencia szinte már ki is alakult a készítménnyel szemben, vagy rövid időn belül számolhattunk rá. Erre azért is képesek, mert rendkívül gyors a generációs idejük és szaporodási rátájuk, valamint a túlélő szuper mikrobák, gombák (spórák) és rovarok lepnek el bennünket. Mindezt még a klímaváltozás is súlyosbítja (1).

Hazánkat többek között a melegkedvelő *Aspergillus* és *Fusarium* fajok tömege érte el. Nem csak élelmiszereinket „szántóföldi és raktározott” növényeinket fenyegeti a tömeges penészgomba spórák megjelenése, de környezetünkre is fokozott veszélyt jelentenek. Különösen az immunhiányos betegségben szenvedők, a koraszülöttek, de az idős legyengült szervezetek is könnyen áldozatul eshetnek a különböző *Aspergillus* fajok támadásainak. Nem szabad elfeledkeznünk azokról az egyénekről sem, akik egészségtudatosabb életmód reményében paleolit, nyers koszt evésével, vagy egyéb kevés konyhatechnológiát alkalmazó étrenddel próbálnak táplálkozni, elárasztva szervezetüket mikrobák tömegével.

Jelen közleményünkben arról szeretnénk beszámolni, hogy néhány ismert gyógynövényünkből származó illóolaj, hogyan képes gátolni aflatoxin termelő *Aspergillus* növekedését *in vitro*.

Irodalmi áttekintés

A penészgombák heterotróf, aerob szervezetek, képesek szélsőséges környezeti viszonyok között szaporodni. Leginkább az oxigént és a nedvességet igénylik, de többségüknek a szubsztrátum néhány százalékos víztartalma és a levegő normál páratartalma is elegendő. Hőmérsékleti igény szerint általában közepesen meleg hőmérsékletet kedvelők, mezofilek. Kedvelik a savas pH-t. Ezen tulajdonságaik hozzájárulnak, hogy az élelmiszeripari nyersanyagok egyik legjelentősebb károkozói legyenek. Jelentős gazdasági és egészségügyi

gondot jelentenek a növénytermesztésben, állattenyésztésben és az élelmiszeriparban. Az élelmiszerekben a penészgombák tevékenysége általában romlás formájában jelentkezik (2).

A penészgomba fajok megjelenése az adott régióban leginkább az adott éghajlati viszonyoktól, valamint az ott termesztett étkezési és takarmánynövényektől és azok összetételétől függ (3).

A mikotoxinok a penészgombák másodlagos anyagcseretermékei, melyet fizikai, kémia és biológiai tényezőktől függően termelnek. Az oxigén jelenléte, a hőmérséklet- és nedvességviszonyok jelentősen generálják a képződésüket. Kiemelkedő a humán-, és állategészségügyi jelentőségük.

Az Európai Bizottság gyorsriasztási rendszeréből (RASFF) egyre több jelzés érkezik a hatóságokhoz élelmiszerek mikotoxin szennyezettsége kapcsán. Legutóbbiak Spanyolországi hűtött pizza tésztákból mért mikotoxin szennyezésről értesítettek. Négyféle mikotoxinból a zearalenon (ZEA), enniatin A₁, (ENA₁) enniatin (ENB) és enniatin B₁ (ENB₁) az összes vizsgált tésztában kimutatható volt. A vizsgált tészták 32%-a tartalmazott AFB₂-t (alatoxin B₂), 23%-a AFB₁-et, (alatoxin B₁), 8% BEA-t (beauvericin). Az AFB₁-gyel szennyezett tészták 12%-ának és a ZEA-nal szennyezett tészták 12%-ának szennyezettsége meghaladta a jogszabályi határértékeket. Igaz nem érték el a eltűrhető heti beviteli értékeket (TWI), azonban a teljes bevitelhez más élelmiszereket is figyelembe kell venni. (4)

A toxintermelő penészgombákat két csoportba sorolhatjuk: a szántóföldi és a raktári penészekre. Előbbibe a *Fusarium*, míg az utóbbiba az *Aspergillus* fajok tartoznak. A csoportosítást azonban nem lehet mereven alkalmazni, ugyanis a két csoportba tartozó penészgombák a szántóföldön, a talajban és a raktárokból is megtalálhatóak, a kontamináció bárhol megtörténhet (5). Az élelmiszerekben előforduló legjelentősebb mikotoxinok: a nivalenol, a zearalenon, az ochratoxin, a fumonizinek és az aflatoxinok (3).

Aflatoxin az egyik legnagyobb jelentőségű mikotoxin a mezőgazdasági termékek körében. Az 1960-as években azonosították először. Jelenleg összesen tizennyolc fajtája ismert, melyet különböző gombafajok termelnek, mint az *Aspergillus flavus* vagy *Aspergillus parasiticus*. Kémiaileg az aflatoxinok a difuranokumarin származékok csoportjába tartoznak, amelyek tartalmaznak egy kettős furángyűrűt és egy kumarin csoportot. A furofurán résznek van kiemelkedő jelentősége a mérgező és karcinogén tulajdonságban. A tizennyolc fajta közül hatnak van kimagasló jelentősége. Ezek a B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ és M₂. Az aflatoxinok B csoportja tartalmaz egy ciklopentán gyűrűt, míg a G csoport egy lakton gyűrűt. Nevüket onnan kapták, hogy az UV fény alatt különböző színnel fluoreszkálnak. A B csoport kéken (B = blue), míg a G csoport zölden (G = green). Az aflatoxin M₁ és M₂ a B₁ és B₂ hidroxilált termékei, amelyek a tejben vannak főleg jelen (M = milk). A hat fajta közül a B₁ a leggyakrabban előforduló és ez minősül a legmérgezőbbnek.

A fogyasztók a táplálkozás révén vihetik be legkönnyebben a toxinokat, különböző penészes nyersanyagok révén. Az M1 és M2 aflatoxin, akkor kerülhet a tejbe, ha az állat penészes takarmányt fogyasztott, amely szennyezett volt B1 vagy B2 aflatoxinnal.

Nagy mennyiségű aflatoxin bevitel rövid távon okozhat hányást, hasi fájdalmat, ödémát, sárgaságot, akut májkárosodás, sőt akár halált is. Emellett az emberi szervezetben, ha hosszú időn át visznek be kis mennyiségű toxint, akkor hatással lehet a májrák kialakulására. Ennek hátterében különféle reaktív metabolitok állnak, mint például a AFB₁-8,9-exo-epoxid. Ez a metabolit képes a DNS vagy RNS nukleofil részével kovalensen kötődni, amelynek az eredménye génmutáció, amely kapcsolatban van a hepatocelluláris carcinoma kialakulásával. Az aflatoxin igen stabil vegyület, hagyományos ételkészítési eljárásokkal (sütés, főzés, mikrohullámú kezelés stb.) nem lehet eltávolítani.(6).

Illóolajok felhasználása az élelmiszerekben

Az illóolajok legnagyobb felhasználója az élelmiszeriparban az Európai Unió (7). Másik lehetséges felhasználási formájuk a tartósítás, mely iránt egyre nagyobb érdeklődés mutatkozik. A megfelelő tartósítási hatások eléréséhez az in vitro kísérleteknél kevesebb illóolaj mennyiség is elegendőnek bizonyult. Az élelmiszerekben lévő összetett kémiai környezet gátat jelenthet az illóolajok hatásának kifejtéséhez, illetve a nagyobb mennyiségű illóolaj az érzékszervi tulajdonságokat is negatívan befolyásolhatja. Ennek elkerülésére céljából érdemes különféle illóolajok kombinációját alkalmazni, valamint modern csomagolási és tartósítási eljárásokat, technikákat (8).

Illóolajok mikroba ellenes hatásai

Napjainkban az élelmiszerbiztonság egyre fontosabb közegészségügyi kérdés, annak ellenére, hogy az élelmiszerbiztonság és higiénia egyre javuló tendenciát mutat, a fogyasztók körében mind nagyobb az ellenérzés a szintetikus adalékanyagokkal szemben. Nő az igény új módszerek feltárására, melyek természetes vagyis „zöld” eredetűek. A kakukkfű és a szurokfű magas fenol tartalmának köszönhetően, valamint a bazsalikom szintén jelentős eugenol és linool tartalmának köszönhetően felerősíthetik egymás hatását. A fahéj aldehidjénél jóval erősebb, ezen illóolajok mikroba ellenes hatása (9). Staphylococcus aureus esetében a levendula, borsmenta és a szurokfű mutatott gátló hatást a kórokozóval szemben (10). Bazsalikom olaj Aeromonas hydrophila, Pseudomonas fluorescens ellen volt hatékony. A teafa olaj 15 baktérium nemzetség 161 izolátumával szemben volt eredményes (11). A sejtfalra és a sejtmembránra fejtik ki hatásukat, mely a Gram-pozitív baktériumoknál erőteljesebb.

Illóolajok gomba ellenes hatása

Az illóolajok gombaölő hatását külön érdemes kezelni fonalas és sarjadzó gombák szerint. Sarjadzó humánpatogén Candida fajokon és élelmiszerromlást okozó élesztőgombák

körében is tapasztaltak gátló hatást (12). A fonalas gombák közül az *Aspergillus* és *Penicillium* nemzetség tagjai állnak a vizsgálat középpontjában. Főleg a kakukkfű, borsika fű, citromfű és a bazsalikom mutatott erős gátló hatást illetve a citrusfélék. A hatásukat a telepek növekedésére, valamint a csírák és a konídiumok csírázóképeségén keresztül fejtik ki (8). A teafa olaj ezen a téren is kiemelkedik, mivel magas gombaölő potenciált mutat, például az *Aspergillus niger* esetében (11). Elsődleges célpont a gomba sejtfala és sejthártyája. A teafa olaj gátolja a *Candida albicans* légzési enzimjét, így csökkenti a légzés erősségét (8).

A tesztelésben szereplő illóolajokról

Indiai citromfű (*Cymbopogon citratus*) trópusi fű féle, széles csomókban nő, elsősorban a levelét használják fel gyógyászati célokra, de a növény bármely része alkalmas lehet. Illóolaj tartalma a földrajzi elhelyezkedés szerint változhat, de fő alkotói a *cymbopogon* és a *cymbopogonol*. A növény föld feletti részében találhatóak még flavonoidok, luteolin, klorogénsav, kávéssav, hidrokinon és katekol. A növény és az illóolaj több gyógyhatása is ismert. Többek között gyulladáscsökkentő és lázcsillapítóak és mérséklék a hasmenést. Antibakteriális és gombaölő képességük is jelentős. Idegrendszerre gyakorolt jótékony hatásukat: nyugtató és szorongás oldás révén érik el (13).

Borsos menta (*Mentha piperita*) hazánkban a legismertebb gyógy-, és fűszernövények egyike. Legkeresettebb fajai a borsos-, és fodros menta. Az ide tartozó növényekre jellemző a szögletes szár, az átellenes levélállás és a fürtös virágzat. Kínában és Japánban már az ókorban termesztették. Napjainkban, Európában, Ázsiában és Amerikában is hatalmas területeken termesztik. A növény körülbelül egy méter magasra nő, rizómás; azaz vastag, rendszerint el nem ágazó és belül tömör, föld alatti módosult szára, gyökértörzse van. enyhén szőrös levelei fogazottak. Virágai fehéres-rózsaszínűek. Legjobban a mély termőrétegű, humuszban gazdag talajban érzi jól magát (14). 44%-os szabad mentol tartalmat mutat. Terápiában inhalálják vagy masszírozással juttatják a bőr felszínére. A borsmenta egyéb fontos illóolajai a mentol mellett, a metil-acetát, a menton és a limonén. Olaját frissen szedett virágrügyek hajtásából desztillálják. Gyógykenőcsök jellemző alkotója, széleskörűen alkalmazzák fájdalmas izomgörcs enyhítésére és ízületi gyulladásra. Az iparilag előállított illóolaját a rágógumi gyártásban, gyógyszerészetben, kozmetika iparban és élelmiszeriparban alkalmazzák. Görcsoldó, gyulladáscsökkentő, emésztést elősegítő és szélhajtó hatással rendelkezik, valamint mikroba ellenes hatása is jelentős (11).

Rozmaring (*Rosmarinus officinalis*) bokros növény, mely 120-150 cm magasra is megnő. Három változatát különböztetjük meg ezüst, arany és zöld sávú. A gyógyászatban a zöld változatot használják. Illóolajok mellett a növény gazdagon tartalmaz csersavakat, gyantát és keserűanyagot. Illóolaj összetevői közé tartozik a bornil-acetát, a borneol és kámfor. A

rozmaryngnak kiemelkedő az emésztőrendszerre gyakorolt hatása, de a szív és az érrendszere is kedvező. A téli időszakban hatékonyan alkalmazható a reumatikus fájdalmakra. (15). A fitoterápiában is kedvelt, főleg kimerültségre, mint frissítő és aktiváló orvosság. Egér kísérletekben a mozgási tevékenység szignifikánsan nőtt az illóolaj inhalációjának hatására (11).

A tesztelésben szereplő Aspergillus fajokról

Aspergillus parasiticus a világban szinte mindenhol megtalálható. Előfordul a talajban és különböző bomló szerves anyagokban. Könnyen elszaporodik kukoricán, gyapotmagon és mogyorón. A meleg éghajlatot kedveli. Ez a gomba kevésbé gyakori, mint az *Asp. Flavus*, ami jellemzően megtalálható diófélékben és olajos magvakban (2). Szintén aflatoxin termelő gomba, két toxint képez az aflatoxin G1-t és G2-t (16).

Az *Aspergillus pseudonomius* egy újonnan izolált *Aspergillus* faj, amelyet rovarokból és talajból izoláltak az Amerikai Egyesült Államokban. Ez a gombafaj az *Asp. nomius*-hoz hasonlatos. Aflatoxin B1-et termel, valamint kojisavat és egyéb alkaloidot (17). Más kutatások szerint azonban az aflatoxin B1 mellett termel még B2, G1 és G2-t is. Az elmúlt években a gombát csupán az USA-ban illetve Braziliában brazil dióban találták meg, valamint Thaiföldön és Mikronéziában házi porból. 2015-ben zajló Közép-európai kutatás során Szerbiában is megtalálták kukorica mintákban (18). Tesztelésünkben szereplő faj is szerbiai kukoricából került izolálásra.

Célkitűzés

Kísérleti munkánkban a tesztelésre kiválasztott három illóolaj hatását teszteltük aflatoxin termelő *Aspergillus* fajokon. A tesztelésben szereplő illóolajokat igyekeztünk úgy kiválasztani, hogy népszerűek, ismertek legyenek és a szakirodalomban is találjunk utalást arra, hogy korábban tulajdonítottak az illóolajoknak gomba ellenes hatást.

- Vizsgáltuk, hogy van-e a tesztelt illóolajoknak gomba ellenes hatása és az hogyan változik a hígítással arányosan.
- Kerestük a választ, hogy a táptalajhoz adagolt illóolaj hatása erőteljesebb-e vagy a szűrőpapírra kicseppentetté.
- Azt a feltételezésünket szerettük volna igazolni, hogy a különböző töménységű illóolajok közül a legtöményebbnek lesz-e a legerősebb gombaölő hatása.

Anyag és módszer

Két felviteli módszerrel dolgoztunk, az egyik módszerben az illóolaj közvetlenül fejtette ki hatását, míg a másíknál az illóolaj csak a párlatával volt képes hatni a gombákra. Az illóolajokból három különböző hígítást készítettünk.

Az illóolajakat kereskedelmi egységben vásároltuk. Az illóolajok 100%-os készítmények voltak, 10 ml-es kiszerelésben. A vizsgálatban szereplő két *Aspergillus* törzset a Szegedi Tudományegyetem Természettudományi Karának Mikrobiológiai laboratóriumából kaptuk.

A tesztelésben szereplő *Aspergillus*okat az SZMC 22273 *Aspergillus pseudonomius*-t Szerbiából származó kukoricából és az SZMC 22727 *A. parasiticus*-t mezőgazdasági raktárban izolálták Horvátországban. Kontroll mintáink nem kaptak illóolajos kezelést.

A vizsgálatokat a Semmelweis Egyetem Egészségtudományi Kara Epidemiológiai Tanszékének mikrobiológiai laboratóriumában végeztük. A kutatás során kétféle módszerrel (szűrőpapíros és tápoldatos) teszteltük az illóolajok gombaölő hatását.

A 48h-ás gomba tenyésztéről steril oltótű segítségével vettünk fel az 1 mm hosszú gomba fonalat, melyet Sabouraud 2%-os dextróz táptalajba szúrtunk. A beoltott lemezeket ezt követően 28°C hőmérsékletű termosztátba helyeztük és 24, 48, 96 és 120h múlva leolvastuk a gomba-telepek átmérőit.

Szűrőpapíros kísérleteknél az *Aspergillus* fajokat lemezes táptalajba szúrtuk oltótűvel. Asztali UV-C germicid lámpa fénye segítségével előzőleg „sterilizáltuk” a szűrőpapírokat, melynek közepébe 35 μ l-nyi illóolajat cseppentettünk. A szűrőpapírokat petricsésze fedőlemezébe illesztettük szorosan, így a papír nem érintkezett a táptalajjal. Ezután parafilmmel zártuk a lemezeket a kipárolgás megakadályozása céljából és 28°C-os termosztátba helyeztük. A telep átmérőket 24, 72, 120 óra múlva mértük le. Három féle illóolaj különböző hígításait használtuk ennél a módszernél is. A hígítások mértéke: 100%, 50% és 25% volt. Az illóolajokat 87%-os steril glicerinnel hígítottuk.

Tápoldatos kísérletnél Sabouraud-dextróz 2%-os tápfolyadékot vásároltunk melyekbe utólagosan mértük a receptura alapján a szilárdító agart. Ehhez szükség volt a tápfolyadékot felfőzni, hogy az agar feloldódjon, melyet 40°C-ig visszahűtöttünk. Erre azért volt szükség, hogy az illóolaj ne károsodjon. 35 μ l illóolaj került valamennyi vizsgálatban szereplő teszt lemezbe, melyet próbáltunk egyenletesen a közegbe elosztatni. Minden egyes lépésünknel vigyáztunk a sterilitásra. Vártuk, míg a táptalaj megdermed és ezt követően 1mm hosszú gombafonalat szúrtunk a táptalajba, oltótűvel. Parafilmmel szintén légmentesen zártuk és 28°C-os termosztátba helyeztük. A telepek átmérőjét a 24, 72, és 120. órában mértük le. Három féle illóolajat és azok különböző hígításait használtunk. A hígítások mértéke: 100%, 50% és 25% volt. Az illóolajokat szintén 87%-os glicerinnel hígítottuk

Eredmények

Valamennyi tesztelésben részvevő illóolaj rendelkezett gátló hatással. Hatásfok szerint a leghatékonyabb az indiai citromfű volt, ezt követte a borsos menta, majd a rozsmaring.

A hígítások esetében is a várt eredményt kaptuk, tehát a legtöményebb 100%-os hígítás bizonyult a leghatékonyabbnak és a hígítás mértékével egyenes arányban csökkent a gátlóhatás. Érdekes, hogy a 100%-os illóolajjal kezelt minták esetén a gátló hatás az idő előre haladtával sem csökkent. A vizsgált gombák tekintetében elmondhatjuk, hogy mindegyik gomba mutatott valamilyen fokú érzékenységet. Itt érdemes kitérni a két módszer közti különbségre. *A. parasiticus* és a *A. pseudonominus* esetén is a tápoldatba kevert illóolaj mutatott nagyobb hatékonyságot.

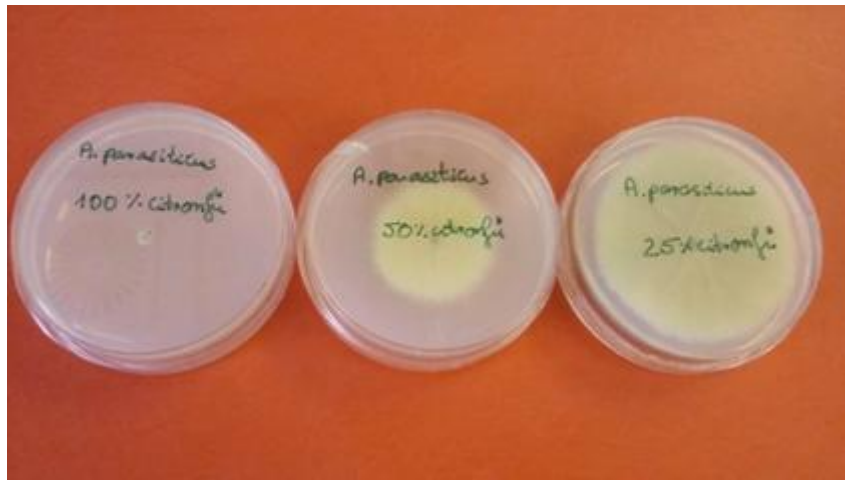
A kontroll mintával összehasonlítva a szűrőpapíros kezelésnél a 100% és 50%-os illóolajjal kezelt minták esetében a telepek növekedése elmaradt, tehát a kezelésünk eredményes volt. A 25%-os minták esetében a mentával történő kezelésnél azonban a telepátmérők hasonlóak voltak, mint a kontroll mintáé. A citromfű és menta hatása kiemelkedő volt, a 100%-os illóolajjal kezelt mintáknál a 120. órára is megmaradt a gátló hatás. A citromfű esetében a gátló hatás azonban csökkent, bár a telepátmérő nagysága messze elmaradt a kontrolléhoz képest. Az 50%-os mintáknál a menta hatása hosszútávon szintén erősebb volt. A rozmarying hatása elmaradt a másik két illóolajtól, a gátló hatás csupán a 100%-os mintáknál volt megfigyelhető.

Az illóolajjal kezelt minták telepátmérője elmaradt a kontroll mintáétól, ez a menta és citromfű esetén mindhárom leolvasási időpontban kifejezett volt. Az említett két illóolaj esetében a 100%-os illóolajjal kezelt mintáknál a gátló hatás totális volt, a gombatelepek a 120. órában sem mutattak növekedést. Az 50% és 25%-os mintákon kifejtett hatás ismét gyengébbnek bizonyult, a citromfű és menta a 24. és 72. órában hasonló eredményeket mutatott, de a 120. órára a menta jobban megtartotta a gátló hatását. A rozmarying hatása mindhárom hígításon kevésbé volt kifejezett (1-6 ábrák).



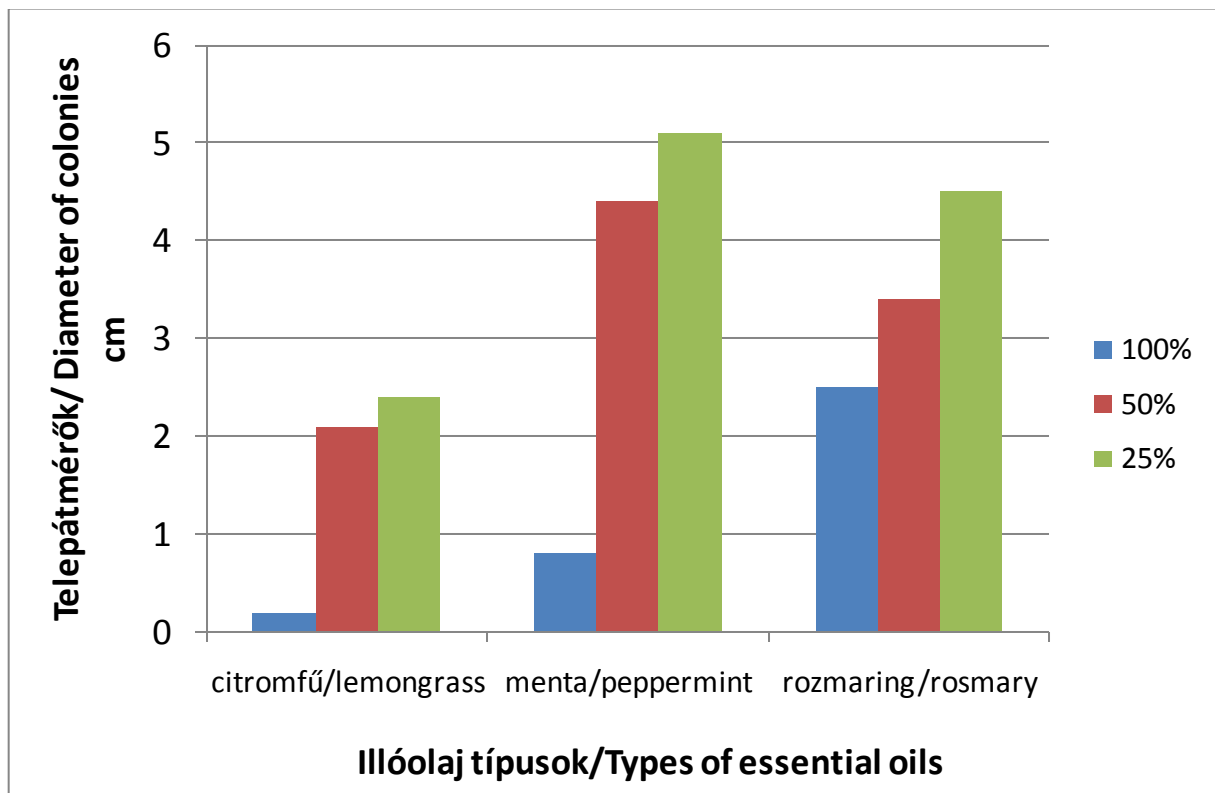
1. ábra: *Aspergillus pseudonominus* kezelése 100%-os mentával

Fig. 1: *Aspergillus pseudomomius* treatment with 100% menta



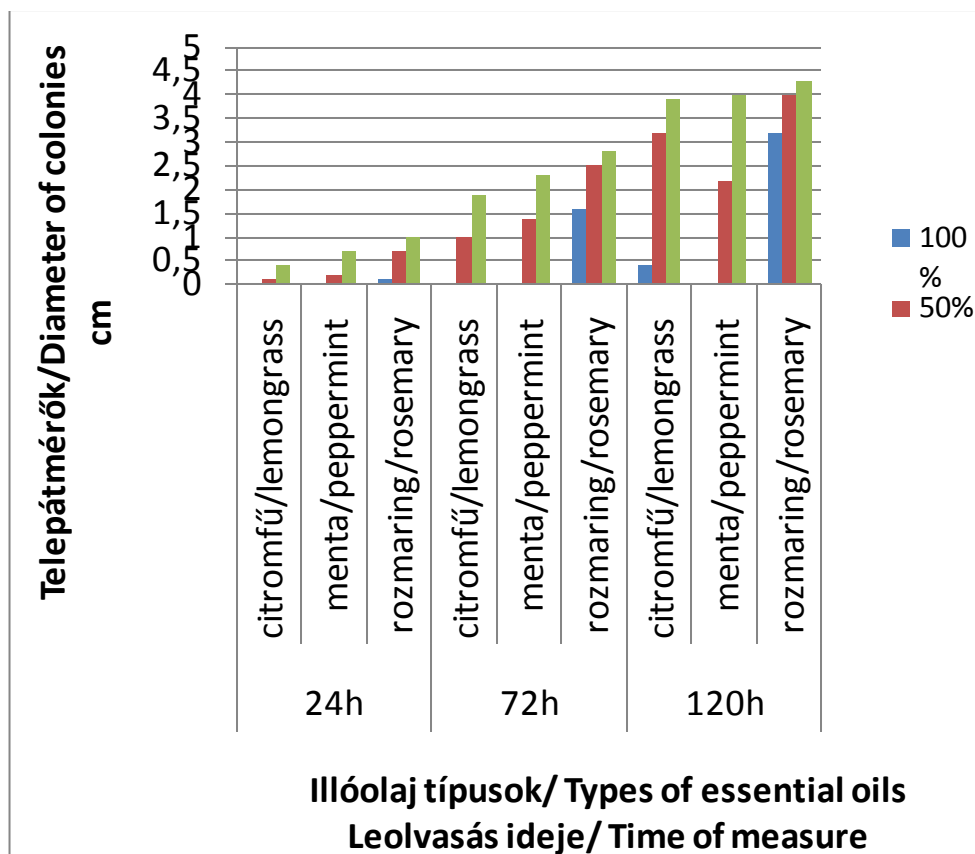
2. ábra: *Aspergillus parasiticus* kezelése 100%-os citromfűvel

Fig. 2: *Aspergillus parasiticus* treatment with 100% lemongrass



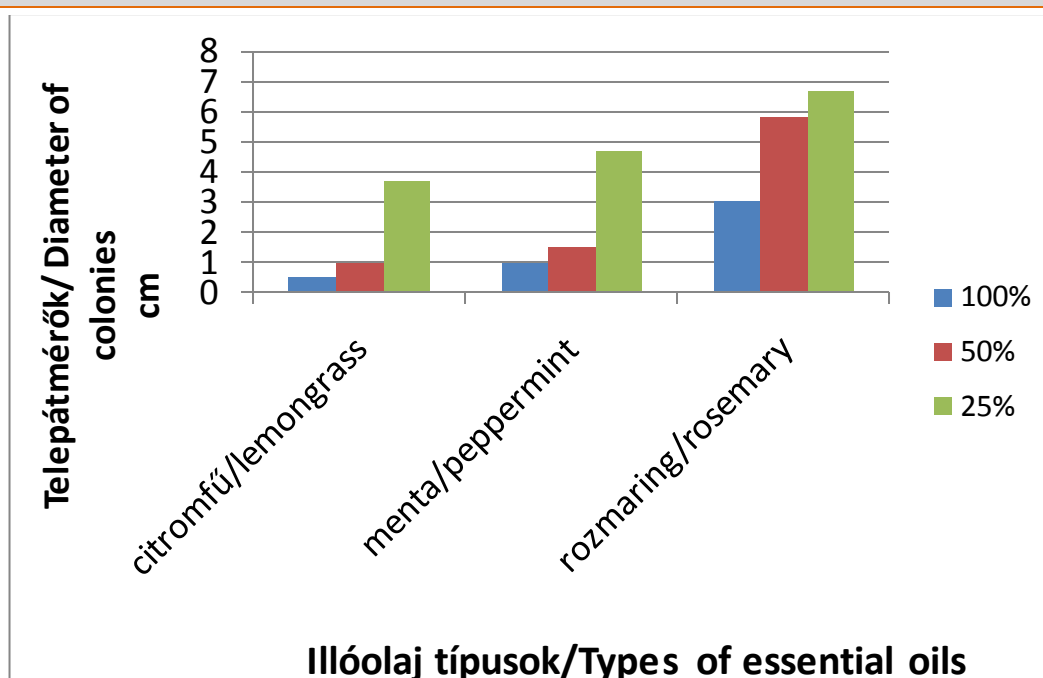
3. ábra: *Aspergillus parasiticus* szűrőpapíros kísérlet eredményei

Fig. 3: Experiment results of *Aspergillus parasiticus* filter paper technique



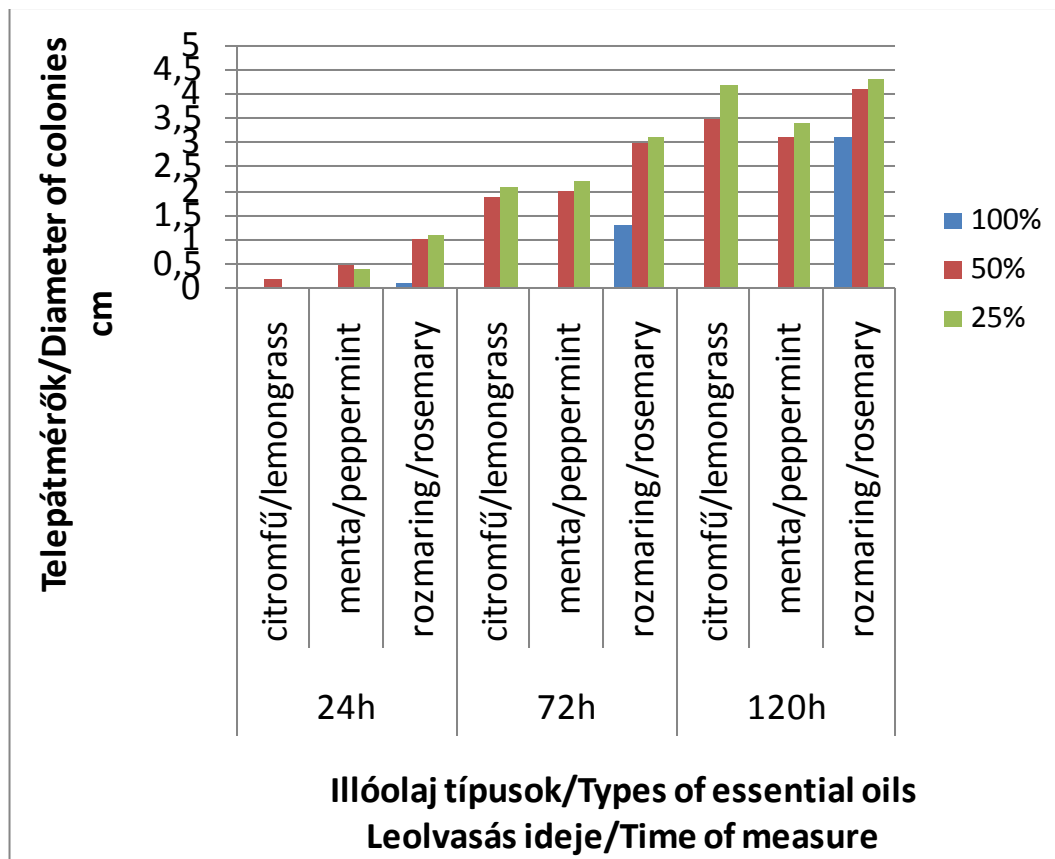
4. ábra: *Aspergillus parasiticus* tápoldatos kísérlet eredményei, n=3

Fig. 4: Experiment results of *Aspergillus parasiticus* nutrient solution



5. ábra: *Aspergillus pseudonomius* szűrőpapíros kísérlet eredményei

Fig. 5: Experiment results of *Aspergillus pseudonomius* filter paper technique



6.ábra: *Aspergillus pseudonominous* tápoldatos kísérlet eredményei

Fig. 6: *Experiment results of Aspergillus pseudonominous nutrient solution*

Megbeszélés

A kutatás során két módszert alkalmaztunk az illóolajok gomba ellenes hatásának feltérképezésére. A szűrőpapíros és a tápoldatos kísérlet is eredményesnek bizonyult, gátló hatást értünk el a két *Aspergillus* faj esetén. Ez megegyezik több nemzetközi kutatással is (11,19). A legerősebb gátlóhatást az indiai citromfű mutatta, melyet a borsos menta követett. E két illóolaj a tápoldatos kísérlet során az összes gombára teljes gátló hatást fejtett ki, melyet az *A. parasiticus* kivételével tartani is tudott. A rozmaring olajnak a legtöményebb változata is minimális gátló hatást tudott kifejteni.

Összegezve elmondható, hogy a vizsgált illóolajok közül érdemes mind a három illóolaj gomba ellenes hatásával számolni. A három hígítás közül a vártaknak megfelelően a 100%-os illóolajjal kezelt mintáknál tapasztaltuk a legerősebb gátlóhatást, különösen a citromfű és a menta esetében.

Az 50% és 25%-os hígításoknál már nem tapasztaltunk ilyen jól elhatárolható különbségeket a különböző illóolajoknál. Különösen igaz ez a rozmaring olaj esetében melynél a 120. órára a két hígítással kezelt gombatelepek növekedése között alig, vagy egyáltalán nem volt mérhető különbség. Az irodalmi eredmények alapján az illóolajok

gombaölő hatását az *A. pseudonimios* esetében a mi csoportunk vizsgálta először ezen illóolajokon.

Célunk volt a két alkalmazott módszer összehasonlítása, mely kapcsán elmondható, hogy a tápoldatba injektált illóolaj hatásosabb volt a szűrőpapíros formánál. Rentsenkhnad (8) kísérleteiben a szűrőpapíros kísérlet mutatott jobb eredményt. Azonban meg kell jegyeznünk, hogy ez a csoport más illóolajokkal és más gombákkal dolgozott. Az eredmények vizsgálatánál azonban nem szabad elfelejteni, hogy *in vitro* laboratóriumi körülmények között dolgoztunk, ám a gátló hatás az élelmiszerek sajátos közegében megváltozhat, így mindenképp fontosnak tartjuk a vizsgálatok folytatását, amely során különböző élelmiszertípusokon (üdítő, szörpök, sajtok stb.) vizsgálnánk az illóolajok hatását.

IRODALOM

REFERENCES

1. *Burgettiné B.E.*: Klímaváltozás és élelmiszer-egészségügy. *Élet és Tudomány*. 2016.10.302–303
2. *Deák T., Kiskó G., Maráz A., et al.*: Élelmiszer-mikrobiológia. Mezőgazda Kiadó .2006.
3. *Beczner J., Farkas J.*: A klímaváltozás és globális felmelegedés várható hatása a mikológiai élelmiszer-biztonságra. *Klíma 21 füzetek*. 2009. 56.1–3
4. [http:// portal.nebih.gov.hu](http://portal.nebih.gov.hu)
5. *Csernus, O.*: Romlást okozó, potenciálisan toxinképző penészgomba fajok növekedésének modellezése a hőmérséklet és a vízaktivitás függvényében. Doktori (PhD) értekezés. Budapesti Corvinus Egyetem. Élelmiszer-tudományi Doktori Iskola .2014.
6. *Wang X., Niessner R., Tang D., et al.*: Nanoparticle-based immunosensors and immunoassays for aflatoxins. *Anal Chim Acta*. 2016 .912. 10–23
7. *Burt S.*: Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International J. of Food Microbiol.*2004. 94.(3). 223–253.
8. *Rentsenkhnad T.*: Illóolajok és kombinációik hatása élelmiszerromlást okozó mikroorganizmusokra. Doktori (PhD) értekezés. Szegedi Tudományegyetem. Biológiai Doktori Iskola. 2010
9. *Bassolé I, H., N., Juliani, H.,R.*: Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*.2012.17.3989–4006
10. *Santos, F., S., Novales, M.,G.,M.*: Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Curr Opin Biotechnol*. 2012 .23 (2). 136–141
11. *Babar, A., Naser, A.,A.-W., Saiba, S., et al.*: Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. *Asian Pacific J. of Tropical Biomedicine*.2015. 5(8). 601–611
12. *Reichling J.,Schnitzler P.,Suschke U., et al.*: Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties an overview. *Forsch Komplement med* .2009. 16.(2)79-90
13. Az indiai citromfű gyógyhatásai.<http://borostyan.net/2012/07/24/az-indiai-citromfű-gyogyhatasai/>
14. Borsmenta.<http://kertlap.hu/borsmenta/2013>
15. Rozmaring.<http://kertlap.hu/ozmaring/2013>
16. *Bhatnagar-M.,P., Sunkara, S., Bhatnagar-P., M., et al.*: Biotechnological advances for combating *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination in crops. *Plant Sci*. 2015 .234.119–132

17. *Varga J., Frisvad J.,C.,Samson, R.,A.:* Two new aflatoxin producing species, and an overview of *Aspergillus* section *Flavi*. *Stud Micol.* 2011. 69 1. 57–80
18. *Baranyi N., Despot D., J., Palágyi A., et al.:* Identification of *Aspergillus* species in Central Europe able to produce G-type aflatoxins. *Acta Biol Hung.* 2015. 66(3).339–347
19. *Hossain, F, Follet P, Vu, K, D et al.:* Evidence for synergistic activity of plant-derived essential oils against fungal pathogens of food. *Food Microbiol* 2016.53.24-30