

Doktori értekezés tézisei

Geréné Radványi Dalma

Budapest
2016.



**SZENT ISTVÁN
EGYETEM**

Szent István Egyetem

**Gombatermesztésben előforduló
kártékony penészek korai kimutatása
illékony másodlagos
anyagcseretermékeikkel**

Geréné Radványi Dalma

Budapest
2016.

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola
tudományága: Élelmiszertudományok

vezetője: Dr. Vatai Gyula
egyetemi tanár
SZIE, Élelmiszertudományi Kar,
Biomérnöki és Folyamattervezési Intézet
Élelmiszeripari Műveletek és Gépek Tanszék

Témavezető(k): Dr. Fodor Péter
professzor emeritus
SZIE, Élelmiszertudományi Kar,
Élelmiszerminőségi, -biztonsági és
Táplálkozástudományi Intézet
Alkalmazott Kémia Tanszék

Jókaité Dr. Szatura Zsuzsanna
egyetemi docens
SZIE, Élelmiszertudományi Kar,
Élelmiszerminőségi, -biztonsági és
Táplálkozástudományi Intézet
Alkalmazott Kémia Tanszék

A jelölt a Szent István Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés nyilvános vitára bocsátható.

.....

Az iskolavezető
jóváhagyása

.....

A témavezetők
jóváhagyása

I. A MUNKA ELŐZMÉNYEI

A csiperkegomba termesztés dinamikusan fejlődő ágazat nem csak Magyarországon, hanem szerte a világon. A kiváló minőség eléréséhez elengedhetetlen a jó alapanyag, vagyis a gombakomposzt előállítás. A komposzt búzaszalma, ló-, illetve baromfitrágya, gipsz és víz keveréke, amelyben összetett biológiai és mikrobiológiai folyamatok zajlanak le; ezen változások eredményeképpen jön létre a gombakomposzt. A hőkezelési szakaszt követően a komposztot gombacsírával oltják be, amelyen kis idő elteltével megjelennek a gombafejek és ezután elkezdődik a letermesztés fázisa. Könnyen belátható, ha a gombakomposzt minősége nem megfelelő, akkor termésökkenés, rosszabb esetben terméskiesés következhet be.

Minőségromlást idézhetnek elő bizonyos komposzton előforduló fertőzések, amelyek korai észlelésére szükség van. A minőség megőrzése mellett fontos szempont a komposzton megjelenő fertőzések megelőzése, elkerülése, hiszen a csiperkegomba rendkívül érzékeny különféle megbetegedésekre (vírusos, bakteriális, penészes) és kártevőkre.

Az egyes penészes fertőzések időbeli detektálása döntő fontosságú a komposzt és a gomba minőségének megőrzése céljából. Jelenleg hazánkban még nem működik olyan online analitikai rendszer, amellyel a penészes fertőzés kimutatható lenne anélkül, hogy az adott sarzsból mintát vennénk. Megoldást jelenthet a szilárd-fázisú mikroextrakciós szál (SPME), amellyel a minta feletti légtérből detektálható a penész jelenléte.

A SPME eszközzel végzett mintavételt általában valamilyen analitikai rendszer követi. Amennyiben a minta feletti illékony komponensek megkötése a cél, akkor GC-MS kapcsolt technikát érdemes társítani az eljáráshoz. A módszer előnye, hogy gyors, viszonylag egyszerű és megfelelő ismeretekkel pontos képet kaphatunk az egyes penészek által termelt mikrobiális eredetű illékony szerves vegyületekről (MVOC). A mikroorganizmusok online azonosításához egy olyan adatbázisra van szükség, amely tartalmazza mindazokat a marker vegyületeket, amelyekkel az adott penész jelenléte gyorsan kimutatható, esetleg a penészes fertőzés időpontja is előrejelezhető. Egy ilyen adatbázis, a továbbiakban egyéb más kórokozók illékony vegyületeivel is bővíthető, ezáltal kiterjeszthetővé válik különböző érlelt tárolókban és szabályozott légterű tárolókban előforduló mikroorganizmusok kimutatására.

II. A KITŰZÖTT CÉLOK

Doktori dolgozatomban **1)** a gombakomposztot károsító penészek illékony anyagcseremarkereinek feltárását, **2)** a gombatermesztésben leginkább kártékony zöldpenész (*Trichoderma aggressivum* f. *europaeum*) különböző szénhidrátforrású tápagon történő vizsgálatát és **3)** gyors statisztikai elkülönítési technika kidolgozását tűztem ki célul.

1. A gombatermesztésben kártékony penészek illékony anyagcseremarkereinek detektálására és monitorozására alkalmas módszer fejlesztése során főbb célkitűzéseim a következők voltak:

- Gyors analitikai módszer kidolgozása *Trichoderma aggressivum* f. *europaeum* illékony komponenseinek detektálására; megfelelően alkalmazható retenciós idő standardok kiválasztása és alkalmazhatóságának kidolgozása.
- A kidolgozott módszer alkalmazásával a gombatermesztésben előforduló kártékony penészek illékony anyagcseremarkereinek (MVOC) meghatározása és monitorozása, valamint a mikroorganizmusok „életkorának” becslése a kibocsátott MVOC vegyületek alapján.
- Az egyes kártékony penészek többváltozós statisztikai módszerekkel történő megerősítő elkülönítése.

2. *Trichoderma aggressivum* f. *europaeum* különböző szénhidrátforrású tápagon történő vizsgálata során főbb célkitűzéseim voltak:

- A *T. aggressivum* MVOC mintázatának feltérképezése, valamint növekedésének vizsgálata különböző tápagon.
- A *T. aggressivum* illékony anyagcseremarkereinek meghatározása és azonosítása különféle tápagon, valamint megfelelő kiértékelő eljárás kidolgozása a különböző intenzitás értékkel rendelkező komponensek minél pontosabb azonosítására.
- A komposztos tápagar összetételének módosítása további marker vegyületek fellelése érdekében.

3. A gombatermesztésben kártékony penészek elkülönítési lehetőségeinek vizsgálata során főbb célkitűzéseim voltak:

- Kemometria eljárással alkalmazása (DFA, PCA, CA) a vizsgált kártékony penészek egymástól való elkülönítésére, amelyek használatával kiválthatók a hagyományos, sokszor időigényes kiértékelési eljárások.

III. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Mikroorganizmusok és minták

A gombatermesztésben kártékony penészgombák közül a *Mycogone perniciosa* (nedves mólé betegség), a *Lecanicillium fungicola* (száraz mólé betegség), valamint a *Trichoderma aggressivum* f. *europaeum* (zöld penész betegség) és *Trichoderma* DOFE (zöld penész betegség, pontos faja nem ismert, természetnél izolált) mikroorganizmusokat vizsgáltam. Kísérleteim során a kétspórás csiperkegombát (*Agaricus bisporus* A15) szintén megvizsgáltam annak érdekében, hogy összehasonlítsam a csiperkegomba és a csiperkét fertőző penészek illékony szerves vegyületeit. A mikroorganizmusokat a Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Karának, Zöldség- és Gombatermesztési Tanszéke bocsátotta rendelkezésemre.

Az alkalmazott statisztikai módszerek (DFA, PCA) tesztelése érdekében olyan mintákat is bevontam a vizsgálatokba, amelyek nagymértékben eltérnek a vizsgálni kívánt mintáktól (*outlier*, kiugró minták): kereskedelmi forgalomban kapható vörösbor (Sauska Siller, Villány/2011), illetve gombakomposzt (Biofungi Kft.).

3.2. Tápagarok

A csiperkegomba és a penész mintákat kezdetben egy gyári PDA (*potato-dextrose agar*, burgonya-dextróz agar, 39 g/L koncentrációban) tápagar felületére oltottam át (1. ábra). A tápagar burgonya-peptont (4 g/L), glükózt (20 g/L) és agart (15 g/L) tartalmazott. Az elkészített leoltásokat fedél nélkül egy 0,5 L térfogatú mintavevő edénybe helyeztem, amelyet azonnal lezártam.



1.ábra: Az öt különböző tenyészet és a három párhuzamos leoltás

(Forrás: saját fotó)

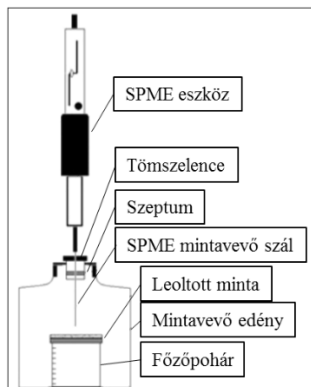
Újabb kísérleti sorozatban a zöldpenészt négy különböző tápagarra oltottam le, amely tápagarokat szintén a Zöltség- és Gombatermesztési Tanszéken állítottam elő. A zöldpenész vizsgálata során a mikrobát MEA (*malt extract agar*, malátakivonatos agar), PDA (*potato-dextrose agar*, burgonya dextróz agar), KA (komposzt agar), valamint tápanyagban szegény VA (víz agar) felületére oltottam le. Kísérleteim második részéhez a szárított gombakomposzt alapú tápagart (KA) módosítottam különböző hozzáadott szénhidrátokkal (dextróz, maltóz, mannit). A tápagarokat az 1. táblázatban található recept alapján készítettem el. A méréseket táptalajonként három párhuzamosban, valamint kontroll (tápagar penész leoltás nélkül) minta vizsgálatával végeztem.

1. táblázat: Tápagarok összetétele 500 mL agar elkészítéséhez. MEA (malátakivonatos agar), PDA (burgonya dextróz agar), KA (komposzt agar), VA (víz agar)

Név	Alapanyag	Agar	Desztillált víz
MEA	7,5 g maláta kivonat	8,0 g	500 mL
PDA	19,5 g PDA agar		500 mL
KA	5,0 g szárított gombakomposzt	8,0 g	500 mL
VA	-	8,0 g	500 mL
KA + dextróz	5,0 g szárított komposzt	1,0 g dextróz 8,0 g	500 mL
KA + maltóz	5,0 g szárított komposzt	1,0 g maltóz 8,0 g	500 mL
KA + mannit	5,0 g szárított komposzt	1,0 g mannit 8,0 g	500 mL

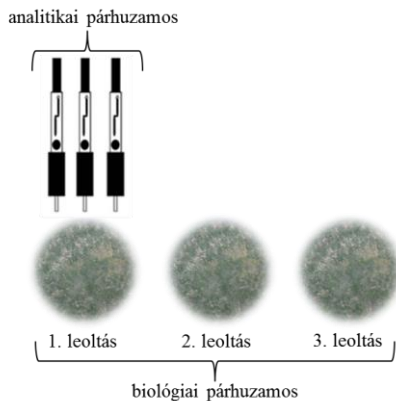
3.3. SPME mintavétel

Az illékony vegyületek kinyerésére három különböző SPME szálát használtam, 100 µm PDMS (*polydimethylsiloxane*), 65 µm PDMS/DVB (*polydimethylsiloxane/divinylbenzene*) és 85 µm PA (*polyacrylate*) szálakat. A mintavétel a 2. ábrán látható sematikus ábra alapján történt.



2. ábra: A mintavétel sematikus ábrája

A kiugró minták feletti légtér mintázásához 0,3 L vörösbort és 0,1 kg gombakomposztot tettem a mintavevő edényekbe, majd az edények lezárása után egy nap elteltével végeztem el a mintavételt. A vizsgálatok során nem csak analitikai, hanem biológiai párhuzamosokat is mértem az egyes mintákból (3. ábra). A mintavétel minden esetben 23 °C-on történt 15 percig.



3. ábra: Az analitikai és biológiai párhuzamos mérések szemléltetése

3.4. Retenció idő standardok

A retenció idő kézben tartásához különböző alkán standardokat, n-heptánt (C7: C₇H₁₆), n-nonánt (C9: C₉H₂₀), tetradekánt (C14: C₁₄H₃₀), pentadekánt (C15: C₁₅H₃₂) és heptadekánt (C17: C₁₇H₃₆) (Sigma-Aldrich) alkalmaztam a kísérleteim során.

3.5. Mérési paraméterek

A méréseket Agilent 6890 típusú gázkromatográf és 5975 C MSD típusú tömegspektrométer kapcsolt technikával végeztem el. Vívógázként 6.0 hidrogént használtam. A hidrogén áramlási sebessége 1,2 ml/perc volt. Az elválástást HP-5MS kapilláris oszloppal végeztem, amelynek összetétele 5% fenil és 95% metilpolisziloxán. A fűtési program paramétereit optimalizáltam, az optimált fűtési program a következők szerint alakult:

Az oszlop kezdeti hőmérséklete 50 °C volt. A fűtési program során 20 °C/perc sebességgel emeltem a kolonnatér hőmérsékletét 150 °C-ra, majd 40 °C/perc sebességgel 170 °C-ra. Ezt követően 25 °C/perc sebességgel nőtt a hőmérséklet 190 °C-ra, ahonnan 40 °C/perc sebességgel fűtöttem az oszlopot 280 °C-ra, végül 50 °C/perc sebességgel 300°C-ra. Ezen a hőmérsékleten 2 percig tartottam a rendszert annak érdekében, hogy az oszlopról minden komponens lefűtsék a következő mérés előtt. Az injektálás splitless üzemmódban történt, az inlet hőmérséklete 250 °C volt.

A tömegspektrométerben minden mérés esetén 230 °C volt az ionforrás hőmérséklete, míg a kvadrupól hőmérséklete 150 °C volt. EI ionforrást használtam pozitív üzemmódban, ahol a molekulákat 70 eV-os kinetikus energiával rendelkező elektronokkal ütköztettem. A tömegspektrométert naponta finomhangoltam (*tune-oltam*) perfluortributil-aminnal (PFTBA). A gázkromatográfot és tömegspektrométert összekötő úgynevezett *transzfer line* hőmérsékletét 300 °C-ra állítottam be (ez megegyezik az oszlop véghőmérsékletével). A vizsgált m/z (töltégségsre eső tömeg) tartomány 33-500 m/z közé esett.

3.2.6. Felhasznált szoftverek

Agilent Enhanced MSD ChemStation szoftvert használtam a GC-MS kapcsolt rendszer paramétereinek vezérlésére. Agilent Enhanced Data Analysis és Agilent MassHunter Qualitative Analysis B.06.00 szoftvereket használtam a komponensek kereséséhez, a tömegspektrumok elemzéséhez és az adatok további kiértékeléséhez (dekonvolúció, háttérkorrekció), valamint a kromatogramok teljes körű összehasonlításához. A kapott komponensek azonosítását a NIST (NIST 2011, Wiley 10th edition) tömegspektrum könyvtárral hajtottam végre. Főkomponens elemzés, lineáris diszkriminancia elemzés és parciális legkisebb négyzetek elvén alapuló regresszió elvégzéséhez XL-Stat statisztikai programcsomagot használtam. A „csúsztatott ablakos” DFA (*deternded fluctuation analysis*, detrendelt fluktuáció elemzés) futtatásához a Physionet statisztikai szoftvert használtam, míg a további számításokat az R-project 3.0.2 verzióján végeztem el.

IV. EREDMÉNYEK

4.1. Módszerfejlesztés a gombatermesztésben kártékony penészek anyagcseremarkereinek detektálására és monitorozására

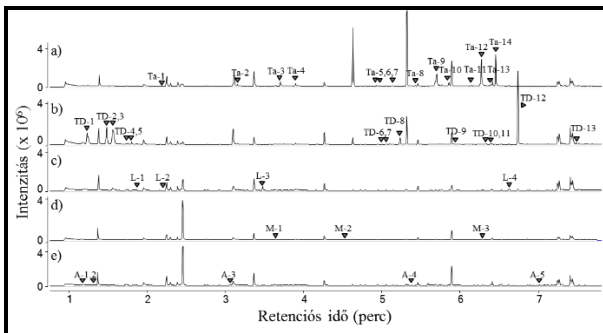
A kromatográfiás elválasztás optimalizálása során *Trichoderma aggressivum f. europaeum* penésszel végeztem a kísérleteket. A felfűtési program optimalizálása során végül egy közel 11 perces, hatékony kromatográfiás elválasztáshoz jutottam. A mikroorganizmusok mintavételezése során három különböző SPME szálát vizsgáltam, melyek közül a 65 µm PDMS/DVB szál bizonyult a legalkalmasabbnak.

Az optimális mintavételi idő meghatározásához a mintavétel idejét 10 és 50 perc között vizsgáltam. Eredményeim alapján az egyensúly 30-40 perces mintavétel után beállt, azonban a gyors analízishez rövidebb, 15 perces mintavételi időt alkalmaztam, hiszen a legtöbb illékony vegyület minőségi vizsgálata már lehetővé válik.

A minőségbiztosítási szempontokat szem előtt tartva, kezdetben a méréseim során retenciós idő standardot is használtam a kromatogramok rögzítése érdekében. Négy standard vegyületet választottam ki (n-nonán, tetradekán, pentadekán és heptadekán), amelyek a kromatogram egy komponensekben „szegényebb” szakaszán eluálódtak. A mintavevő rendszer memóriahatását kihasználva biztosítottam a retenciós idő standard jelet, így nem kellett a mintához hozzáadagolni külön a standardokat. Ez a technika retenciós idő standard jelet biztosított a kromatogramon megközelítőleg 4 napig.

4.2. Gombatermesztésben előforduló kártékony penészek illékony anyagcseremarkereinek meghatározása

A kidolgozott módszer alkalmazásával lehetővé vált a gombakomposzt előállítás során előforduló kártékony mikroorganizmusok (*Trichoderma aggressivum*, *Mycogone perniciosa*, *Lecanicillium fungicola*) által kibocsátott illékony szerves vegyületek feltérképezése, azonosítása. A továbbiakban fontos feladat volt meghatározni az egyes mikroorganizmusokra egyénileg jellemző, úgynevezett marker vegyületeket. A marker vegyületek egyértelműen jellemzik az adott mikroorganizmust, így csak akkor jelennek meg a kromatogramon, ha az adott penészt vizsgáljuk (4. ábra). A 2. táblázat tartalmazza a gombakomposztot károsító mikroorganizmusok által termelt marker vegyületek listáját.



4. ábra: A leoltást követő harmadik napon kapott TIC kromatogramok összehasonlítása, amely megadja az egyes penészekre jellemző MVOC mintázatot. (a) *T. aggressivum*, (b) *T. DOFE***, (c) *L. fungicola*, (d) *M. perniciosa*, (e) *A. bisporus*. Az egyes jelölt komponensek a 2. táblázat „csúcs ID” oszlopában találhatóak. ** Termelőnél izolált zöld penész, melynek pontos faja nem ismert

2. táblázat: Gombakomposztot károsító mikroorganizmusok által termelt marker vegyületek listája. Csúcs ID: az egyes minták rövidítését, kódját tartalmazza (Ta: *T. aggressivum* f. *europaeum*, TD: *T. DOFE*, L: *L. fungicola*, M: *M. perniciosa*, A: *A. bisporus*) illetve a talált komponensek sorszámát; *jelöli azokat a komponenseket, amelyek tömegspektruma a melléklet 2.3.-2.5. ábráján láthatók.

Minta	Csúcs ID	tR (min)	Komponens neve
<i>Trichoderma aggressivum f. europaeum</i>	Ta-1	2,21	* unknown
	Ta-2	3,41	D-limonene
	Ta-3	3,70	* 4-nonanone
	Ta-4	3,84	2-nonanone
	Ta-5	4,93	(3E)-3-ethylidene-3a-methyl-2,4,5,6,7,7a-hexahydro-1H-indene
	Ta-6	4,98	1,1,4,4-tetramethyl-2,5-dimethylene-cyclohexane
	Ta-7	5,12	2-ethylidene-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptane
	Ta-8	5,43	1,6,6-trimethyl-7-(3-oxobut-1-enyl)-3,8-dioxatricyclo[5.1.0.0(2,4)]octan-5-one
	Ta-9	5,70	n-decanoic acid
	Ta-10	5,86	furfuryl alcohol
	Ta-11	6,15	(E)-5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid; (icosapent)
	Ta-12	6,27	6-pentyl-2H-pyran-2-one
	Ta-13	6,37	5,6-dihydro-6-pentyl-2H-pyran-2-one
	Ta-14	6,46	tetrahydro-6-pentyl-2H-pyran-2-one
	Ta-15	8,31	unidentified diterpenoid
Ta-16	9,01	* unknown	

Trichoderma DOFE**	TD-1	1,23	2-methyl-1-propanol
	TD-2	1,48	3-hydroxy-2-butanone (acetoin)
	TD-3	1,56	3-methyl-1-butanol
	TD-4	1,75	unidentified alcohol (butanediol)
	TD-5	1,80	2,3-butanediol
	TD-6	5,00	unidentified pyran compound
	TD-7	5,10	cycloocta-2,4-dien-1-ol
	TD-8	5,23	(10R)-10-methyl-2-oxecanone
	TD-9	5,92	(R)-1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis-(1-methylethenyl)cyclohexane
	TD-10	6,24	(E)-12-methyloxacyclododec-9-en-2-one
	TD-11	6,33	(Z)-8-methyl-9-tetradecenoic acid
	TD-12	6,74	3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methyl-1H-2-benzopyran-1-one; (3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methylisocoumarin)
	TD-13	7,49	[3R-(3 α ,3 β ,7 β ,8 $\alpha\alpha$)]-2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetramethyl-1H-3a,7-methanoazulene (cedr-8-ene)
Lecanicillum fungicola	L-1	1,84	cyclopentanone
	L-2	2,22	2-dodecanone
	L-3	3,47	methyl 2-ethylhexanoate
	L-4	6,63	unknown
Mycogone perniciosa	M-1	3,59	unidentified alkane compound
	M-2	4,49	unknown
	M-3	6,23	unknown
Agaricus bisporus	A-1	1,15	acetic acid
	A-2	1,32	1-chlorobutane
	A-3	3,06	3-octenone
	A-4	5,59	1,2,3-triacetoxypropane (triacetin)
	A-5	7,02	3,5-dimethoxy-4-hydroxycinnamic acid (sinapinic acid)

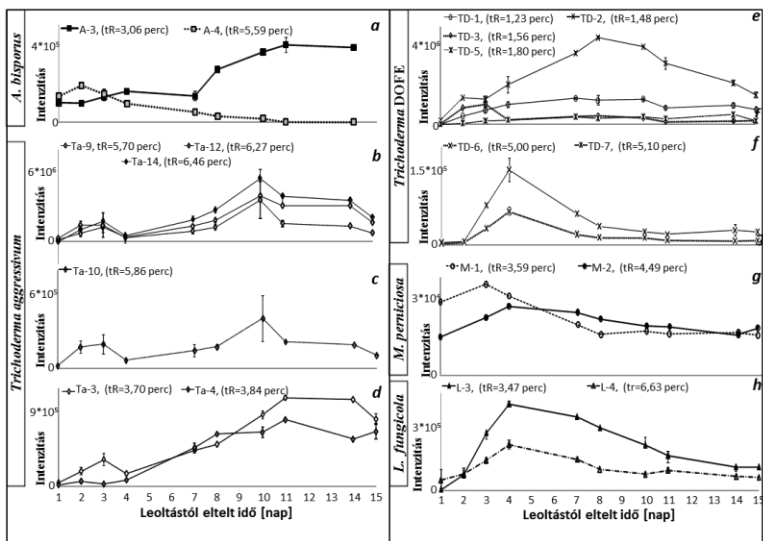
** Zöldpenész, pontos fajta nem ismert, a penészt egy gombatermelőnél izoláltuk

4.3. A gombatermesztésben előforduló kártékony penészek illékony anyagcseremarkereinek megfigyelése, monitorozása

A mikroorganizmusok élettevékenységük során hifa fonalakat növesztettek radiális irányban. Amint a mikroorganizmus elérte a táptalaj szélét spórákat termelt a megváltozott környezeti feltételek miatt. A növekedés során termelt marker komponensek segítségével megállapítható, hogy a vizsgált penész melyik növekedési szakaszban van.

A marker vegyületek monitorozása során megállapítottam, hogy a legtöbb csiperkegomba marker vegyület intenzitása növekvő tendenciát mutatott a vizsgálat során. A *M. perniciosa* és *L. fungicola* penészek legtöbb marker vegyületüket a harmadik és negyedik vizsgálati napon emittálták. A leoltástól számított hetedik napon a legtöbb marker termelődése lecsökkent vagy megállt, vagyis ezek a fajok főként a micéliumnövekedés szakaszában

bocsátottak ki marker vegyületet (5. ábra g h). A *Trichoderma* fajok ebből a szempontból eltérő tendenciát mutattak a többi vizsgált penészhez képest. A zöldpenész legtöbb marker vegyülete a hetedik nap után jelentős intenzitás növekedést mutatott (5. ábra b c). A markerek megjelenése és intenzitásuk növekedése éppen akkorra tehető, amikor a zöld spóra megjelent a leoltott penészmintákon.



5. ábra: Anyagcseremarkerek intenzitásváltozása a leoltástól számított 1-15. napon. Az egyes komponensek jelölését a 2. táblázat „Csúcs ID” oszlopa tartalmazza

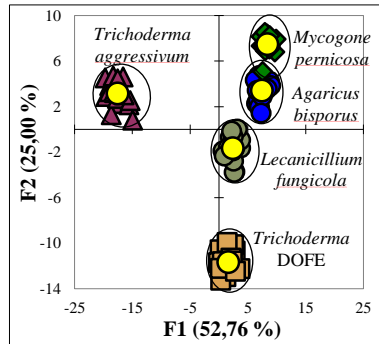
A penészek marker vegyületeinek meghatározásával elvileg egyértelműen el tudjuk különíteni az egyes penész fajokat. Azokban az esetekben, amikor nincs vagy nagyon kevés marker vegyület áll rendelkezésünkre, kemometriai módszerek segítségével különíthetjük el a vizsgált mintákat.

Kezdetben főkomponens elemzést (*principal component analysis*, PCA) használtam a minták elkülönítésére (57 közös vegyület integrált csúcs alatti terület értékel).

A statisztikai elemzés előtt ellenőriztem a PCA feltételeit. PCA első három főkomponense 76,51 % variációt magyaráz. A PC1 a napok szerinti eltéréseket, míg a PC2 a minták közötti különbségeket magyarázza. A harmadik főkomponens szintén a minták közötti különbségeket írja le, ezáltal

pontosítva a PC2 által magyarázott eltéréseket. A főkomponensekben szerepet játszó változók vizsgálata során megállapítottam, hogy a 7. perc körül érkező vegyületek felelősek a minták közötti eltérésekért. A PCA nem tudta maradéktalanul elkülöníteni a mintákat, meg kell azonban nem is ez volt a módszer elsődleges célja, hanem az idő és a minták elkülönülésében szerepet játszó változók meghatározása.

Második lépésben lineáris diszkriminancia elemzést (*linear discriminant analysis, LDA*) alkalmaztam a minták egymás közötti és időbeli különbségeinek feltárására. Először a fajok csoportosítását végeztem el (6. ábra). A minták elkülönítése az LDA alkalmazásával sikeresnek bizonyult a legtöbb esetben, azonban volt egy minta (*M. perniciosa*, első napon), amely a csoportjától eltérően a csiprke mintához került nagyon közel.



6. ábra: A vizsgált penészfajok LDA elkülönítése a minták szerint. A minták jelölése a következők szerint történt: napok száma, faj neve, imétlés száma. F1, F2: első, második diszkrimináló függvény

Másodszor pedig a leoltástól eltelt idő (napok) alapján történő elkülönítésre alkalmaztam az LDA modellt. Az eredmények alapján a negyedik napig a leoltástól eltelt napok száma jól elkülöníthető, majd ezt követően a modell nem tudott különbséget tenni a leoltástól eltelt napok között.

4.4. A leoltástól eltelt napok számának becslése PLS-R modellel

Parciális legkisebb négyzetek elvén alapuló regressziós modellt (*partial least squares regression, PLS-R*) használtam a leoltástól, vagyis a fertőzéstől eltelt napok számának előrejelzésére. Első lépésben meghatároztam a tanuló adatsort, aminek segítségével a PLS-R modellt felépítettem. Ez esetben a modell előrejelzi adott mintára a leoltástól eltelt napok számát, azonban az

adott minta leoltástól eltelt ideje ismert, így az előrejelzés és az ismert adatokból a különbség számítható. Ez a különbség megadja a modell hibáját (MSE), amiből a modell hibájának gyöke (RMSE) számítható. Ugyanezt elvégezzük a modell számára addig még ismeretlen predikciós adathalmazon. Így az előrejelzés és az ismert adatok különbségéből megkapjuk a predikciós adathalmazra felállított modell hibáját (MSEP), aminek gyöke szintén a modell szórását adja meg (RMSEP). A vizsgálat során használt paramétereket és a regressziós modell eredményét az egyes penész fajokra, illetve az *A. bisporus* csiperkegombára a 3. táblázat foglalja össze.

3. táblázat: Paraméterek és a PLS-R modell átlagos négyzetes hiba gyökének (RMSE: *root mean square error*) értéke az egyes penészfajokra és csiperkegomba micéliumára. R^2 : determinációs együttható, MSE: átlagos négyzetes hiba (*mean square error*), RMSE: átlagos négyzetes hiba gyöke, RMSEP: a predikció átlagos négyzetes hiba gyöke (*root mean square error of prediction*), $n_{\text{(tanuló)}}$: minták száma a tréning adathalmazban, $n_{\text{(predikciós)}}$: minták száma a predikciós adathalmazban, LV: látens változók száma

Minták	R^2	MSE	RMSE (nap)	RMSEP (nap)	$n_{\text{(tanuló)}}$	$n_{\text{(predikciós)}}$	LV
<i>Agaricus bisporus</i>	0,992	0,117	0,306	0,342	16	7	3
<i>Lecanicillium fungicola</i>	0,991	0,187	0,432	0,654	20	9	5
<i>Mycogone perniciososa</i>	0,901	1,897	1,377	1,381	17	8	2
<i>Trichoderma aggressivum</i>	0,979	0,417	0,646	0,651	18	10	2
<i>Trichoderma DOFE</i>	0,983	0,334	0,578	0,771	18	8	3

A modell magas R^2 és alacsony átlagos négyzetes hiba (*mean square error*, MSE) értékeket mutatott. Az RMSE értékek azt jelzik, hogy milyen hibával tudja a PLS-R modell előrejelezni egy adott minta leoltástól eltelt napjainak számát. A tanuló adathalmaz vizsgálata során hasonló eredményeket kaptam (RMSE), mint a predikciós adathalmaz vizsgálata során (RMSEP), emellett az értékek egymással szoros pozitív korrelációban álltak, ezért a modell alkalmas ismeretlen minták „korának” azaz a leoltástól eltelt időnek a becslésére.

4.5. A *Trichoderma aggressivum* növekedésének vizsgálata

Munkám során nyomonkövettem a *T. aggressivum* által kibocsátott illékony anyagcseretermékeket különböző tápagarokon. *T. aggressivum*

penészmintá által kibocsátott illékony komponenseket hét napig monitoroztam és vizsgáltam a penész fejlődése során történő változásokat. A kezdeti micéliumképzést követően zöld spórák jelentek meg a micéliumgyep szélén, majd a vizsgált időszak végére ellepték a fehér micéliumot is. A tápanyagban szegény tápagarokon a micéliumnövekedés jelentéktelen volt, a spóraképzés sokkal gyorsabbnak bizonyult (7. ábra).

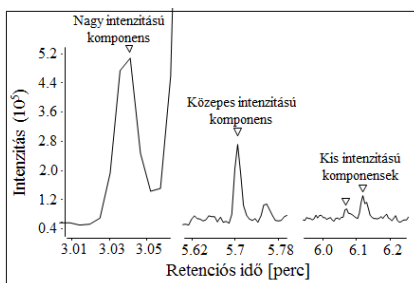


7. ábra: *Trichoderma aggressivum* a leoltástól eltelt hatodik napon.

Táptalajok balról jobbra: PDA (burgonya-dextróz agar), KA (komposzt agar), MEA (maláta-extrakt agar), VA (víz agar) (**Forrás:** saját fotó)

4.6. *Trichoderma aggressivum* illékony anyagcseremarkereinek azonosítása

Méréseim során a manuális kiértékeléssel kapott komponenseket csoportokba rendeztem intenzitás értékeik alapján (8. ábra), majd különböző eljárásokat dolgoztam ki a vizsgált komponensek megfelelő kiértékelésére.



8. ábra: Nagy- ($\geq 4 \cdot 10^5$), közepes- ($1,2 \cdot 3 \cdot 10^5$) és kis ($\leq 10^5$) intenzitású komponensek

A manuális azonosítás során a kellően „nagy intenzitással” bíró komponensek azonosítása tömegspektrum könyvtárak alkalmazásával egyszerűen megoldható volt. Az azonosítás során megbízható eredményeket

kaptam. A „közepes intenzitású” komponensek esetén háttérkorrekciót kellett alkalmazni, melynek eredményeként elértem, hogy a komponens tömegspektrumát a háttérben lévő egyéb komponensek fragmenszei ne zavarják. Az így kapott háttérzajtól mentes tömegspektrum már megfelelően azonosítható volt tömegspektrum könyvtár segítségével. Az azonosítás során a legnagyobb kihívást a „kis intenzitású” komponensek jelentették. Ezekben az esetekben manuális dekonvolúciót alkalmaztam a komponensek megtalálásához. Az azonosítás során gondot okozhat, hogy a vizsgálandó komponens fragmenszeinek intenzitása nem sokkal nagyobb, mint a háttérben lévő zavaró fragmenszek intenzitása, így a háttér tömegspektrum kivonásával elveszíthetjük a komponensből származó, azonosításhoz nélkülözhetetlen fragmenseket is a tömegspektrumról. Ebben az esetben megerősítő azonosításokat végeztem a helyes eredmény érdekében.

4.7. Trichoderma aggressivum marker komponenseinek vizsgálata

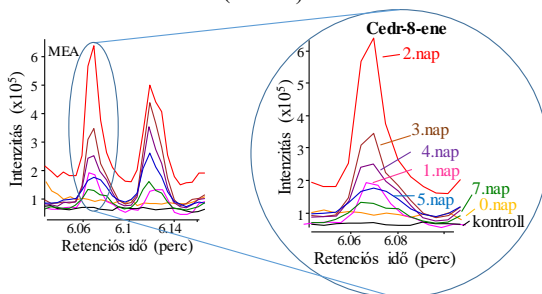
A zöldpenész vizsgálata során kezdetben az MVOC mintázatot vizsgáltam minden különböző tápagra történt leoltások esetében. Ezen kísérletek eredményeként összesen mintegy 150 komponenszt találtam, melyek közül végül 44 vegyületet soroltam a *T. aggressivum* marker komponensei közé (4. táblázat). A kiválasztott 44 marker vegyületből 3 olyan vegyületet találtam, amelyek táptalajtól függetlenül minden tenyésztett penész esetében megjelentek. A tápanyagban gazdag tápagarokon (PDA, MEA) történt leoltásnál 18 olyan vegyületet sikerült azonosítanom, amelyek tápanyagban gazdag tápagarra leoltva jellemzik a vizsgált mikroorganizmust.

A 21 (18+3) közös markerkomponensen felül 10 olyan vegyületet találtam, amelyek csak a PDA tápagarra leoltott *T. aggressivum* fejlődése során termelődtek, illetve 13 olyan vegyületet, amelyek csak a MEA tápagaron tenyésztett penész esetében keletkeztek. Ezeket a vegyületeket táptalaj-/szubsztrát függő markerekként említem a továbbiakban.

4. táblázat: Marker vegyületek csoportosítása különböző tápagarra (MEA, PDA, KA, és VA) történt leoltások szerint. * jelöli azt az azonosítatlan vegyületet, amely a MEA és PDA táptalajon kívül a víz agaron is megjelent

Marker vegyületek			
	Subsztrát függő markerek	MEA-PDA markerek (micéliumnövekedés)	Subsztrát független markerek
PDA	<i>2-propanone; isobutyl chloride; 1-propanol, 2-methyl; longifolene; ismeretlen vegyületek (t_R=5,38; 5,48; 5,58; 5,76; 5,81és 5,84 perc)</i>	<i>octane; adamantan-2-ol, 4-bromo-, cis; alpha-humulene;cedr-8-ene;beta-cubebene; beta-copaene;beta-ylange; patchoulane; (5Z)-5-pentadecen-7-yne; ledane; gamma- elemene; (2Z,6E)-farnesol; azonosítatlan C₁₅H₂₆ származékok (t_R=6,30 és 6,33 perc); ismeretlen vegyületek (t_R=3,10; 3,36*; 6,26 és 7,67 perc)</i>	<i>1,2-dimethyl benzene; 3-octanone; 2-pinen-4-ol</i>
MEA	<i>benzeneethanamine; tyrene; tetracyclo[5.3.1.1(2,6).0(4,9)]dodecane; beta-caryophyllen; 8,11-octadecadiynoic acid, methyl ester; 4-(2,2-dimethyl-6-methylenecyclohexyl)butanal ; azonosítatlan 2H-pirán származék (t_R=4,68 perc); ismeretlen vegyületek (t_R=4,33; 4,61; 5,15; 6,16; 6,48 és 7,32 perc)</i>		
KA			
VA			

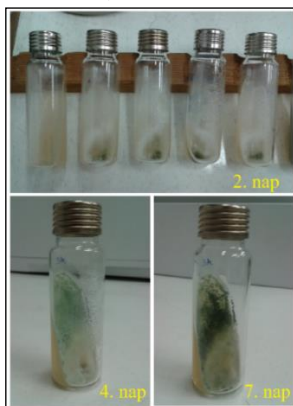
A sikeres azonosítást követően megvizsgáltam a marker vegyületek intenzitásának időbeli változását (9. ábra).



9. ábra: MEA (maláta kivonatos agar) tápagar felületére oltott zöldpenész által kibocsátott *cedr-8-ene* vegyület intenzitásának változása a vizsgált napok függvényében

Az intenzitás értékek változásában bekövetkező tendenciák alapján az egyes marker vegyületeket különböző csoportokba soroltam (monoton növekvő, maximumot mutató, monoton csökkenő vagy fluktuáló tendenciát mutató).

A monitorozás során figyelemmel kísértem a különböző tápagarra oltott penészek növekedését is (10. ábra).



10. ábra: A zöldpenész növekedése MEA tápagaron. (**Forrás:** saját fotó)

A különböző csoportokba sorolt marker vegyületek a mikroorganizmus különböző növekedési fázisában jelentek meg. Ezek alapján arra következtettem, hogy az első napokban termelődött illékony anyagcseremarkerek főleg a zöldpenész micéliumnövekedése során termelődtek. A zöldpenész spóráképződéséhez köthetők azok a vegyületek, amelyek intenzitásmaximumukat a 3.-4. nap után értékék el.

4.8. Marker komponensek vizsgálata módosított tápagaron

A komposztos táptalajt különböző cukrok (mannit, maltóz, dextróz) hozzáadásával dúsítottam, és ezekre a módosított tápagarokra újra leoltottam a *T. aggressivumot*, majd ismét megvizsgáltam a megjelenő illékony anyagcseretermékeket.

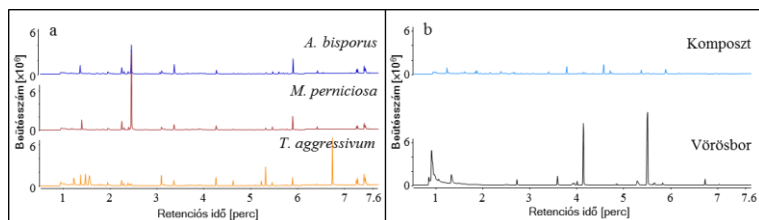
A várt gyorsabb növekedés helyett ismét zöld spóratelemek képződését tapasztaltam. Megállapítottam, hogy a módosított tápagarra oltott penész további két olyan vegyületet emittált (*tyrene* és *3-octanol*), amelyek egyértelműen a *T. aggressivum* jelenlétéhez köthetők, tehát annak marker vegyületei.

4.9. Gombatermesztésben előforduló kártékony penészek MVOC adatbázisa

HS-SPME-GC-MS kapcsolt technika segítségével létrehoztam egy olyan adatbázist, amely az adott mikroorganizmusra jellemző anyagcseremarkereket tartalmazza. Az adatbázis segítségével a későbbi mérések során egy-egy fertőzés megjelenése gyorsan indikálhatóvá, esetleg (penészfaj szinten) azonosíthatóvá válik. Az adatbázis bővítése során egy-egy új vegyület felvétele hosszadalmas kiértékelési folyamatot igényel, így a továbbiakban megoldást kerestem arra, hogyan tudnám kiváltani ezt a bonyolult, időigényes folyamatot

4.10. A gombatermesztésben kártékony penészek elkülönítésének lehetősége detrendelt fluktuációelemzéssel

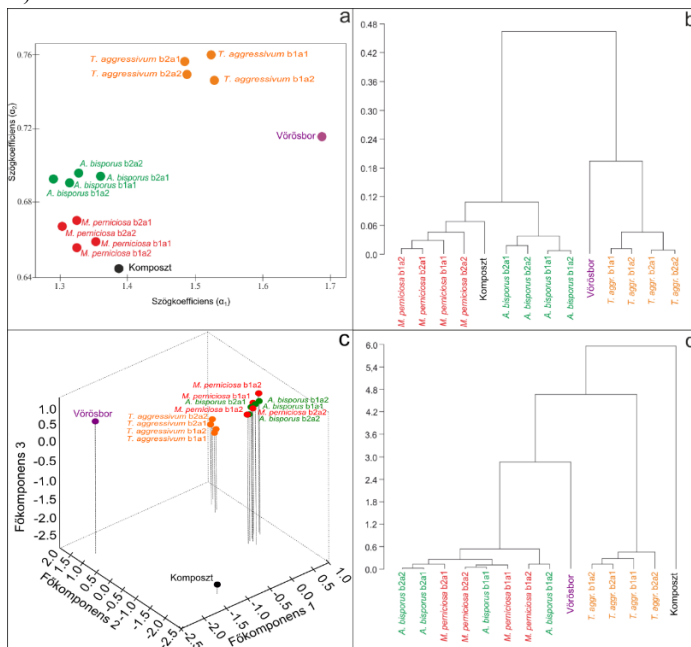
A különböző minták elkülönítése során első lépésben vizuálisan értékeljük a TIC kromatogramokat (11. ábra) és megpróbáljuk kiszűrni azokat a komponenseket, amelyek az elkülönítésben szerepet játszhatnak. Ezt követően megtörténik a kiértékelés, ahol az elvárásainknak megfelelően megkeressük a két minta közötti különbségeket.



11. ábra: a) TIC kromatogramok a vizsgált három mikroorganizmus (*A. bisporus*, *M. perniciososa* és *T. aggressivum*) esetében, b) A vizsgált kiugró minták (vörösbőr, gombakomposzt) TIC kromatogramjai

A 11. ábrán a különbséget okozó (akár biomarkereket) komponenseket nehéz észrevenni, vagyis vizuális úton nehéz különbséget tenni a minták között, így nem lehet nagy bizonyossággal meghatározni a marker vegyületeket. A minták kielégítő elkülönítéséhez sokszor időigényes feldolgozásra, adatok kinyerésére van szükség. Az elemzési idő rövidítése érdekében különböző statisztikai módszereket használtam a még nyers, ki nem értékelt TIC kromatogramokon. Első lépésben detrendelt fluktuáció elemzést alkalmaztam az adatokra. Mivel a DFA nem egy hagyományos kiértékelési eljárás, ezért az eredményeket egy sokkal ismertebb és

megszokottabb statisztikai módszerrel, a főkomponens elemzéssel (PCA) validáltam. Ezután klaszter elemzést (*cluster analysis*, CA) futtattam mind a PCA szkórokra (*scores*), mind pedig a DFA koefficiensekre (*coefficients*). Az ilyen módon kapott dendrogramok már elegendő információt szolgáltatnak a két módszer megbízható összehasonlításához, tehát a DFA validálásához (12. ábra).



12. ábra: Az egyes minták elhelyezkedése a) kétdimenziós térben, melyeket α_1 és α_2 exponensekkel állítottam elő DFA esetében és c) három dimenziós térben, melyeket PCA szkórok segítségével állítottam elő. b) α_1 és α_2 exponensekre, míg d) PCA szkórokra futtatott klaszter elemzés dendrogramja.

Megállapítottam, hogy a DFA jól elkülönítette a mintákat, míg a PCA nem tudott megfelelően különbséget tenni az *A. bisporus* és a *M. perniciosa* penész minták között. A DFA módszere tehát alkalmasabbnak bizonyult kiértékeletlen, feldolgozatlan teljes ion kromatogramok alapján történő gyors elkülönítésre, mint a PCA. Kísérleteim során bizonyítékot nyert tehát, hogy a fentiekben ismertetett statisztikai módszerek segítségével lehetőség nyílik a minták gyors elkülönítésére, akár online módon is, kiváltva ezáltal az időigényes, bonyolult kiértékelési lépéseket.

V. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

- 1) Kidolgoztam egy gyors, szilárd-fázisú mikroextrakciós mintavételi technikával kombinált gázkromatográfias tömegspektrometriai (HS-SPME-GC-MS) eljárást, amellyel kimutatható a penész jelenléte gombakomposzt előállító és gombatermelő üzemekben. A módszerfejlesztés során egy új eljárást, nevezetesen memóriaeffektuson alapuló retenciós idő standard használatát vezettem be.
- 2) Meghatároztam a gombatermesztésben előforduló három kártékony penész (*Trichoderma aggressivum*, *Mycogone perniciosa* és *Lecanicillium fungicola*) mikrobiális eredetű illékony szerves anyagcseretermékeit (MVOC), továbbá az egyes vizsgált penészekhez köthető MVOC mintázatot *in vitro* körülmények között. PLS-R statisztikai eljárás alapján előrejelzést dolgoztam ki, amely az MVOC vegyületek alapján alkalmas a penészes fertőzés „korának”, azaz a leoltástól eltelt napok számának meghatározására.
- 3) Meghatároztam a legfőbb kártevő penész (*Trichoderma aggressivum* f. *europaeum*) növekedése során termelt táptalajfüggő, ujjlenyomatszerű MVOC mintázatát, valamint feltérképeztem a vizsgált penész különböző szénhidrátforrású tápagon történő illékony anyagcseremarker kibocsátását.
- 4) Meghatároztam a gombatermesztésben kártékony három vizsgált penész (*Trichoderma aggressivum*, *Mycogone perniciosa* és *Lecanicillium fungicola*) marker vegyületeit – közel 80 vegyületet -, amelyek minden esetben egyértelműen jelzik az adott mikroba jelenlétét. Ezt követően létrehoztam egy olyan szerves illékony anyagcseremarkerekből álló adatbázist, amely segítségével a hasonló körülmények között vizsgált penészek jelenléte könnyen előrejelezhető a minta feletti légtérből.
- 5) Kidolgoztam egy új eljárást, amely segítségével a feldolgozatlan (kiértékeletlen) teljes ion kromatogramok (TIC) összehasonlítása alapján különíthetők el az egyes vizsgált penész minták. Megállapítottam, hogy bonyolult és időigényes kiértékelési folyamat nélkül időszerelemzést alkalmazva az egyes minták megkülönböztethetők, ezáltal a kidolgozott módszer integrálhatóvá válik a légtér folyamatos monitorozását végző online rendszerekbe.

VI. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Doktori munkám során egy olyan analitikai módszer kidolgozására törekedtem, amely a gombatermesztésben kártékony penészek indikálására képes a minta feletti légtérből. Az penészekre egyedileg jellemző marker vegyületek ismeretében lehetőségünk nyílik a mikrobak azonosítására, kemometriai módszerekkel az egyes penészek elkülönítésére, csoportosítására, vagy azok „életkorának” előrejelzésére. Pontos tömegmérésen alapuló analitikai eljárásokkal a módszer fejleszhető, nagy felbontású készülékek bevonásával az azonosítás pontossága javítható.

Munkám során létrehoztam egy olyan adatbázist, amelyet online rendszerekbe integrálva a komposzt feletti légtér monitorozása során a penészes jelenlét kimutatására alkalmazható. Az adatbázis bővítésével a penészes romlás széles körben kimutathatóvá válik az élelmiszeripar bármely területén.

A kidolgozott HS-SPME-GC-MS módszer alkalmas lehet különböző élelmiszer hamisítások kimutatására. Például az aszú borok előállítása során nélkülözhetetlen a *Botrytis cinerea* penész a szőlőszemekben, amely a szőlőszem aszúsodását idézi elő. Amennyiben a környezeti paraméterek nem megfelelőek a penész számára, elmarad az aszúsodás folyamata, vagyis az adott évből származó aszú boroknak feltüntetett termék minősége kérdéses. A szesziparban további alkalmazási terület lehet a penészes gyümölcsökből készült párlatok azonosítása is.

Mindezekon felül a technika nem csak az élelmiszeriparban megjelenő penészek detektálására, hanem például úgynevezett beteg épület szindrómát (*Sick Building Syndrome*, SBS) okozó beltéri penészek vizsgálatára is alkalmas. A módszer tehát kiterjeszhető az élelmiszer vizsgálatokról a környezet monitorozására is, ezáltal megelőzhető lehet számos egészségre káros betegség (például allergia és asztma) kialakulása.

A HS-SPME-GC-MS technika felkeltette az orvostudomány érdeklődését is. A legfrissebb kutatásokban a különböző emberi testen/testben elszaporodott mikroorganizmusok kimutatását vizsgálják leheletből, vizeletből. A lehelet vizsgálatával a torokban, garatban illetve gyomorban vagy az ezeket összekötő emésztőrendszerben megtapadt és elszaporodott mikrobakat lehet kimutatni (például fogszuvasodás vagy cukorbetegség detektálása). Különböző bőrgombásodást okozó mikroorganizmusok (például *Trichophyton rubrum* vagy *Candida intertrigo*) kimutatására is alkalmassá válhat a technika megfelelő adatbázis kiépítése után.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

Impakt faktoros folyóirat cikkek:

- 1) **Radványi D.**, Gere A., Sipos L., Kovács S., Jókai ZS., Fodor P. (2016): Discrimination of mushroom disease-related mould species based solely on unprocessed chromatograms. *Journal of Chemometrics*, Volume: 30 Issue: 4, Special Issue, Pages:197–202. DOI: 10.1002/cem.2777 (**IF=1,50**)
- 2) **Radványi D.**, Gere A., Jókai ZS., Fodor P. (2015): Rapid evaluation technique to differentiate mushroom disease-related moulds by detecting microbial volatile organic compounds using HS-SPME-GC-MS. *Analytical and bioanalytical chemistry*, Volume: 407 Issue: 2 Pages: 537-545. DOI: 10.1007/s00216-014-8302-x (**IF=3,659**)

Nem impakt faktoros folyóirat cikkek:

- 1) **Radványi D.**, (2014): LDA-val a penész ellen. *Közgazdász, LV. Évfolyam 8. szám 18. oldal.*
- 2) Tima H., **Radványi D.** (2015): Penészes romlások kimutatásának lehetőségei. *Őstermelők Gazdálkodók Lapja 2015/4*, pp. 39-41. HU ISSN 1418-088X.

Konferencia kiadványok–Magyar nyelvű összefoglaló:

- 1) **Radványi D.**, Jókai Zs és Fodor P (2013) Gombakomposzt illékony vegyületeinek vizsgálata HS-SPME-GC-MS technikával, 2. Környeztkémiai Szimpózium, Dobogókő
- 2) **Radványi D.**, Csordás Zs, Jókai Zs, Fodor P (2014) Gombakomposztot károsító mikroorganizmusok vizsgálata HS-SPME-GC-MS technikával, Aktualitások a táplálkozástudományi kutatásokban című workshop, Budapest
- 3) **Radványi D.**, Jókai Zs., Fodor P., DB. Chu, S. Hann (2014) Különböző beltéri penészek által kibocsátott szerves illékony vegyületek vizsgálata HS-SPME- GC-QTOF-MS kapcsolt analitikai technikával, 3. Környeztkémiai Szimpózium, Lajosmizse
- 4) **Radványi D.**, Jókai Zs., Fodor P., (2015) Illékony komponensek ionizálásának lehetőségei. CI vs. EI 4. Környeztkémiai Szimpózium, Tata

Konferencia kiadványok – magyar nyelvű előadás:

- 1) **Radványi D.** (2014) Mikrobiális eredetű illékony vegyületek vizsgálata HS-SPME-GC-EI/CI-qTOFMS kapcsolt analitikai rendszerrel, MTA-KÉT Élelmiszertudományi Albizottsági ülés, Budapest

Konferencia kiadványok – Nemzetközi összefoglaló:

- 1) **D. Radványi**, Zs. Jókai, P. Fodor, DB. Chu, K. Sterflinger-Gleixner, S. Hann (2014) Analysis of microbial volatile organic compounds of different indoor fungi using HS-SPME combined with accurate mass GC-EI/CI-qTOFMS, ASAC-Junganalytikerinnenforum, Tulln (Ausztria)
- 2) **D. Radványi**, A. Gere, L. Sipos, S. Kovács, Zs. Jókai, P. Fodor (2015) Discrimination of mushroom disease-related mould species based solely on unprocessed chromatograms, Conferentia Chemimetrica, Budapest (Magyarország)
- 3) **D. Radványi**, L. Juhász, Zs. Jókai, A. Geösel, P. Fodor (2015) Analysis of microbial volatile organic compounds emitted by *Trichoderma aggressivum* growing on different substrata, 7th International Symposium on Recent Advances in Food Analysis, Prague, (Csehország)

Konferencia kiadványok – Nemzetközi teljes:

- 1) L. Juhász, **D. Radványi**, Zs. Jókai, P. Fodor (2015) Determination of volatile metabolite markers using HS-SPME-GC-MS technique, 21st International Symposium on Analytical and Environmental Problems, Szeged (Magyarország)
- 2) **D. Radványi**, Zs. Jókai, P. Fodor (2015) Ionization techniques of volatile compounds. CI vs EI, 21st International Symposium on Analytical and Environmental Problems, Szeged (Magyarország)

Hivatkozások (összes):

- 1) **Radványi D.**, Juhász R., Kun Sz., Szabó-Nótin B., Barta J. (2012): Preliminary study of extraction of biologically active compounds from elderberry (*Sambucus nigra* L.) pomace. *Acta Alimentaria*, Volume: 42 Pages: 63-72.
Dulf FV., Vodnar DC., Dulf EH., Tosa MI. (2015) Total phenolic contents, antioxidant activities, and lipid fractions from berry pomaces obtained by solid-state fermentation of two *Sambucus* species with *Aspergillus niger*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Volume:63 Issue: 13..Pages? 3489-3500 DOI:10.1021/acs.jafc.5b00520
- 2) **Radványi D.**, Gere A., Jókai ZS., Fodor P. (2015): Rapid evaluation technique to differentiate mushroom disease-related moulds by detecting

microbial volatile organic compounds using HS-SPME-GC-MS. *Analytical and bioanalytical chemistry, Volume: 407 Issue: 2 Pages: 537-545.*

Sun D., She J., Gower LJ., Stokes CE., Windham GL., Baird RE., Mlsna TE. (2016) Effects of growth parameters on the analysis of *Aspergillus flavus* volatile metabolites. *Separations, Volume: 3..Issue: 2..Pages:13* DOI: 10.3390/separations3020013

Szakmai elismerés, szakmai díjak:

- 1) Magyar Állam, Köztársasági Ösztöndíj (2011.)
- 2) Magyar Állam, Köztársasági Ösztöndíj (2012.)

Elnyert hazai tudományos pályázat résztvevője:

- 1) KMR-12-1-2012-0189

Konzulensi munka (diplomamunka témavezetés):

- 1) Csordás Zsófia: Gombatermesztésben kártékony mikroorganizmusok élettevékenységének vizsgálata, illékony komponenseinek feltérképezése HS-SPME-GC-MS kapcsolt technikával, Élelmiszerbiztonsági és – minőségi mérnök MSc. diplomamunka (2014) Témavezetők: **Radványi Dalma**, Fodor Péter
- 2) Juhász Loretta: Különböző tápagarra oltott, gombatermesztésben kártékony penész anyagcseretermékeinek vizsgálata HS-SPME-GC-MS technikával, Élelmiszerbiztonsági és – minőségi mérnök MSc. diplomamunka (2016) Témavezetők: **Radványi Dalma**, Jókainé dr. Szatura Zsuzsanna
- 3) Lovász Ferenc: *Trichoderma aggressivum* anyagcseremarkereinek vizsgálata különféle stressz hatására légtéri mintavételezéssel, Élelmiszerbiztonsági és – minőségi mérnök MSc. diplomamunka (2016) Témavezetők: **Radványi Dalma**, Jókainé dr. Szatura Zsuzsanna

Konzulensi munka (TDK témavezetés):

- 1) Csordás Zsófia: Gombatermesztésben kártékony mikroorganizmusok illékony komponenseinek vizsgálata HS-SPME-GC-MS technikával, BCE Élelmiszertudományi Kar házi TDK konferencia, Élelmiszerkémia, minőségbiztosítás szekció, **II. helyezés** (2014) Témavezető: **Radványi Dalma**
- 2) Juhász Loretta: Különböző tápagarra oltott, gombatermesztésben kártékony penész anyagcseretermékeinek vizsgálata HS-SPME-GC-MS technikával, BCE Élelmiszertudományi Kar házi TDK konferencia,

Beltartalmi jellemzők szekció, **III. helyezés** (2015) Témavezetők:
Radványi Dalma, Jókainé dr. Szatura Zsuzsanna

Összesített:

Közlemények összesen:	16
Idegen nyelvű, IF-os:	4
Magyar nyelvű, IF-os:	1
Kumulatív impakt faktor:	6,319
Magyar nyelvű, nem IF-os:	2
Konferencia kiadványban	
magyar nyelvű összefoglaló:	3
idegen nyelvű teljes:	2
idegen nyelvű összefoglaló:	3