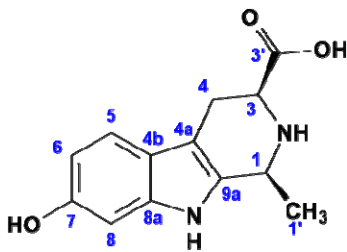


SZENT ISTVÁN EGYETEM

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**BAZÍDIUMOS NAGYGOMBÁK
ANTIOXIDÁNS HATÁSÚ BIOAKTÍV ANYAGAI**



KRÜZSELYI DÁNIEL

GÖDÖLLŐ

2018

A doktori iskola megnevezése: Biológiai tudományi Doktori Iskola

Tudományága: Biológiai tudományok

Vezetője: **Dr. Nagy Zoltán**
Egyetemi tanár, DSc
SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Növényteni és Ökofiziológiai Intézet

Témavezetője: **Prof. Dr. Vetter János**
Egyetemi tanár, DSc
Állatorvostudományi Egyetem
Növényteni Tanszék

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, A KITŰZÖTT CÉLOK

A gombákról szóló, körülbelül 2000 évvel ezelőttre tehető első írásos emlékek arról tanúskodnak, hogy nemcsak táplálkozási, hanem gyógyászati célokat is szolgáltak. A gombák nagyüzemi termesztésével, a gombákkal kapcsolatos kutatások is elindultak, a kutatások gerincét a gazdasági érdekek - a gombák beltartalmi értékeinek megismerése, illetve a termesztés potenciáljának növelése – adták (CHEUNG, 2010). Napjainkra a mikológiai biokémia egy teljesen új tudományterületté nőtte ki magát, közel 100 gombafaj vizsgálatával (FERREIRA et al. 2009). Általánosságban elmondható, hogy a vizsgálatok a termőtest (esetlegesen a kalap és tönk) kivonatainak hatásaira fókuszálnak. A vizsgálatok számos bioaktív anyagot mutattak ki a gombák esetében, melyek hatásai szerteágazóak, ilyenek többek között: az antioxidáns, az antimikrobiális, a gyulladáscsökkentő, az immunstimuláns és az egyéb specifikus hatások (WASSER, 2011).

A terápiás célokat is szolgáló vegyületek általában kis molekulájú peptidek vagy makromolekulák (pl.: poliszacharidok). A gombákban kimutatott fenoloid és flavonoid származékok a prevencióban (az egészség megőrzésében, illetve a betegségek megelőzésében) játszhatnak szerepet. Ilyen vegyületeket mind a termesztett, mind pedig a vadon termő fajokban kimutattak már (ALVAREZ-PARRILLA et al., 2007; LI et al., 2012).

A gombák másodlagos anyagcseretermékeit még mindig nem sikerült teljes mértékben feltárni, még egy adott faj esetében sem. A gombák hatóanyagait elemző kutatások mai irányzatai éppen ezeket az anyagokat célozzák meg.

A témának – tudományos érdekességei és sokszínűsége mellett – van egy fontos és nem elhanyagolható vonatkozása is. Egyes gombák ma már por, kapszula és tablettá formájában is elérhetőek, fogyaszthatóak. A kedvelt és így

is fogyasztott gombák közé sorolható a pecsétviaszgomba (*Ganoderma lucidum*), a süngomba (*Hericium erinaceus*) és a shiitake (*Lentinula edodes*).

Az ilyen termékek minőségbiztosítását nem lehet kellőképpen megvalósítani, irányadó hatóanyag-tartalom értékek nélkül.

Napjainkban a különleges gombák, illetve a felfedezett új vegyületek száma napról napra nő, a mikoterápia (a gombahatóanyagok gyógyászati felhasználása) egyre nagyobb teret kap, ami az internetnek, a globalizált kereskedelemnek és az egészséges életre való törekvésnek is köszönhető. A témakört érintő további kutatások hozzájárulhatnak a táplálkozásunkban egyre jelentősebb, manapság gyakran „super food”-nak említett gombák jobb megismeréséhez és tudatosabb hasznosításukhoz.

A doktori munkám során kitűzött célok, pontokba szedve:

- A gombák antioxidáns hatású anyagai (főként fenoloidok, flavonoidok) és ezen anyagok összmenyisége, illetve az antioxidáns aktivitásuk meghatározása, a gomba termőtesten belüli eloszlásának megismerése.
- Egy általánosan alkalmazható mintavételi és minta-előkészítési módszertan alkalmazása, a hagyományos tagolás (kalap-tönk) helyett, a kalapbőr, a kalaphús, a termőlemezek és a tönk felosztás bevezetése.
- A teljes termőtest és primordium közötti különbségek feltárása.
- Különböző analitikai módszerek alkalmazása a gombák antioxidáns anyagainak feltérképezésére, illetve az antioxidáns vegyület(ek) meghatározása.
- A mérési adatok egységesítése és egy törzsminősítő rendszer kidolgozása az antioxidáns paraméterek ismeretében.
- A tárolás és a tartósító módszerek hatásának vizsgálata a termesztett gombafajok antioxidáns anyagai mennyiségi változásainak tükrében.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. A vizsgált gombák és a minta-előkészítés lépései

A vizsgálatokhoz több gombafajt és a termesztett gombák közül számos törzset sikerült beszerezni. A vizsgálatokban szereplő gombafajok: a **csiperkegomba** (*Agaricus bisporus* – nyolc fehér és hat barna törzs), a **déli tőkegomba** (*Agrocybe cylindracea*), a **téli fülőke** (*Flammulina velutipes*), a **süngomba** (*Hericium erinaceus*), a **nyárfa érdestinóru** (*Leccinum duriusculum*), a **shiitake** (*Lentinula edodes* – három törzs), az **ördögsekér laskagomba** (*Pleurotus eryngii*), a **kései laskagomba** (*Pleurotus ostreatus* – 17 törzs). A hagyományos mikológiai metodika (kalap-tönk) (FERREIRA et al., 2007) helyett egy sokkal átfogóbb képet adó felosztást, az ún. „frakcionálást” alkalmaztam. A frakcionálás követően négy morfológiailag jól elkülöníthető részt kapunk, ezek a kalapbőr, a kalaphús, a termőlemezek és a tönk.

A saját fejlesztésű extrakció lépései:

1. A liofilizált és porított gombaanyagból (frakciók, termőtest, primordium) 1-1 g-ot veszünk ki, ezt 10 ml 96%-os MeOH-al elegyítjük;
2. 1 órán keresztül 60 °C-on rázatjuk, 175 rpm sebességgel (*Laberte Vibrotherm, LE-204/2*)
3. Büchner-tölcsérrel és *Whatman No. 4*-es szűrőpapírral leszívjuk az extraktumot;
4. a visszamaradó anyagot ismét a lombikba helyezzük és megismételjük az eljárást;
5. a két extraktumot egyesítjük;
6. az extraktumot 10 ml-re bepároljuk, 45 °C hőfokú szárítószekrényben;
7. a különböző kromatográfiás eljárások előtt a felhasznált mintákat 0,22 µm pórusátmérőjű teflon fecskendőszűrőn szűrtem.

2.2. Kisműszeres vizsgálati módszerek

Összfenoloid – tartalom meghatározás – (SINGLETON & ROSSI, 1965)

- 1 ml gombaminta + 4 ml Folin-Ciocalteu reagenst (10 V/V%)
+ 5 ml Na₂CO₃ (7,5 m/m%)
- 30 perc inkubációt követően mérés: 765 nm
- Kalibrálás: 20-150 µg galluszsav (10 µg-os lépték).

Végleges adatok galluszsav ekvivalens értékben (*mg GSE/g sz.a.*)

Összflavonoid – tartalom meghatározás – (GURSOY et al. 2009)

- 1 ml gombaminta + 1 ml MeOH + 2 ml AlCl₃ (2 m/m%)
- 10 perc inkubációt követően mérés: 415 nm-en
- Kalibrálás: 5-60 µg quercetin (5 µg-os lépték)

Végleges adatok quercetin ekvivalens értékben (*mg QE/g sz.a.*)

Antioxidáns-aktivitás meghatározás DPPH-módszerrel – (BLOIS, 1958)

- 1 ml minta + 3,1 ml MeOH + 0,9 ml DPPH (1 mM) – küvetta
- 50 µl minta + 150 µl MeOH + 50 µl DPPH (1 mM) – microplate
- 15 perc inkubációt követően mérés: 517 nm-en

Az eredményeket a szabadgyök lekötés %-ban adtam meg:

$$\text{Gyökkötő képesség (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] * 100$$

Az A₀ a kontroll minta (antioxidáns mentes), míg az A₁ az adott gombaminta abszorbanciája.

Tartósító módszerek – Tartósítási vizsgálatokra (**1. táblázat**) is felhasználtam: az *Agaricus bisporus* ‘K-145’, a *Pleurotus ostreatus* ‘P80’, és a *Lentinula edodes* ‘KST-67’ gombatorzseket.

1. táblázat – A különböző eljárások típusa, időtartama, hőmérséklete

Kezelés	Típus	Időtartam	Hőmérséklet	Rövidítés
Hűtve tárolás	hűtés	3 nap	5 °C	hűtés (3n)
	hűtés	7 nap	5 °C	hűtés (10n)
	fagyasztás	3 hónap	-20 °C	F 3 hó
	fagyasztás	6 hónap	-20 °C	F 6 hó
Szárítás	szűrőpálcán szárított szobahőmérsékleten	48 óra	20-32 °C	szűrőp.
	szárítószekrény	48 óra	24,5 °C	24,5 °C
	szárítószekrény	48 óra	35 °C	35 °C
	szárítószekrény	24 óra	60 °C	60 °C
	szárítószekrény	24 óra	90 °C	90 °C
Kémiai kezelés	blansírozás	-	100 °C	blans.
	sós	-	100 °C	sós
	ecetes	-	100 °C	ecetes
	natúr	-	100 °C	natúr
Mikrohullámú kezelés	800 W	5 perc	-	mh 5'
	800 W	15 perc	-	mh 15'

A tartósító eljárások során nyert minták összfenoloid-, összflavonoid-tartalmát és antioxidáns aktivitását mértük, a korábban leírt módszerek szerint.

2.3. Elválasztástechnikák

Vékonyréteg kromatográfia és SPE – A gombakivonatokban lévő antioxidáns anyagok elválasztására a legjobb felbontást az ACN-H₂O-CH₃COOH 75:25:3 (V/V) oldószer elegy adta. A rétegeket ezután DPPH oldatba (1 mM) merítettem, így szemléltetve az adott gombafaj adott részeinek antioxidáns profilját. Meghatároztuk az aktív komponensek anyagcsoportját származékképzési módszerekkel. Szilárd fázis extrakciót (SPE) is végeztem, ezzel a minták összetettségét próbáltam csökkenteni, így az aktív komponenseket nagyobb koncentrációban tudtam izolálni.

Nagyműszeres vizsgálatok

HPLC-DAD-ESI-MS – A nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás elválasztáson alapuló eljárásokat négy különböző vizsgálatra használtam:

1. Az antioxidáns anyagok kimutatása DPPH–HPLC-DAD módszerrel,
2. az aktív anyagok jellemzése, kromatográfiás csúcsok tisztaságának vizsgálata HPLC-DAD-MS technikával,
3. az aktív anyagok izolálása az SPE eluátumokból,
4. az aktív anyagok mennyiségi összehasonlítása a különböző gombafajok és frakciók esetében.

Mind a négy esetben ugyanazokat az elválasztási paramétereket és HPLC berendezést alkalmaztam.

ESI-TOF-MS – Az izolált anyag pontos tömegének ismerete szükséges az összegképlet meghatározásához. Az izolált mintát pozitív és negatív ESI ionizációval vizsgáltuk. A kapott adatok alapján meghatároztuk a pontos tömeget, az összegképletet és a fragmensek alapján a szerkezeti tulajdonságokat is.

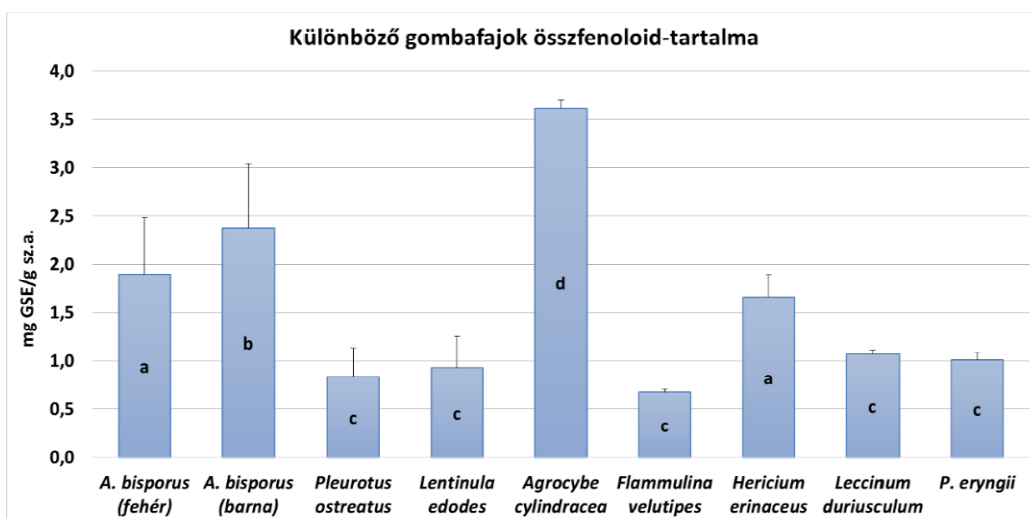
NMR (mágneses magrezonancia spektroszkópia) – Az NMR, a kémiai szerkezetvizsgálatok egyik alapvető eszköze. Az izolált mintát deuterált metanolban oldottuk és 5 mm átmérőjű standard NMR csövekben mértük. Az adatgyűjtés *VnmrJ 3.2C* szoftverrel történt, a *ChemPack 5.1*-ben szereplő standard pulzusprogramok használatával.

CD (cirkuláris dikroizmus spektroszkópia) – Az NMR vizsgálatokat kiegészítettük ún. cirkuláris dikroizmus spektroszkópiával (CD). A síkban polarizált fény (jobbra és balra cirkulárisan polarizált) a királis mintán áthaladva eltérő mértékben nyelődik el. Ez azt hivatott szolgálni, hogy a végső különböző kémiai szerkezetek közül a megfelelő királitású szerkezetet tudjuk meghatározni, mivel erre az NMR-spektroszkópia nem alkalmas.

3. EREDMÉNYEK

3.1. A gombafajok és a gombatörzsek közötti különbségek

A déli tőkegombában mértem a legmagasabb fenoloid szintet, míg a legkisebb mennyiséget a téli fülökében mutattam ki. A téli fülőke tartalmazta ellenben a legtöbb flavonoidot, s ez a színanyagával magyarázható. A termesztett gombák közül a barna csiperke tartalmazott jelentős mennyiségű fenoloidot, míg a késői laskagombában csupán a harmada volt jelen (1. ábra).

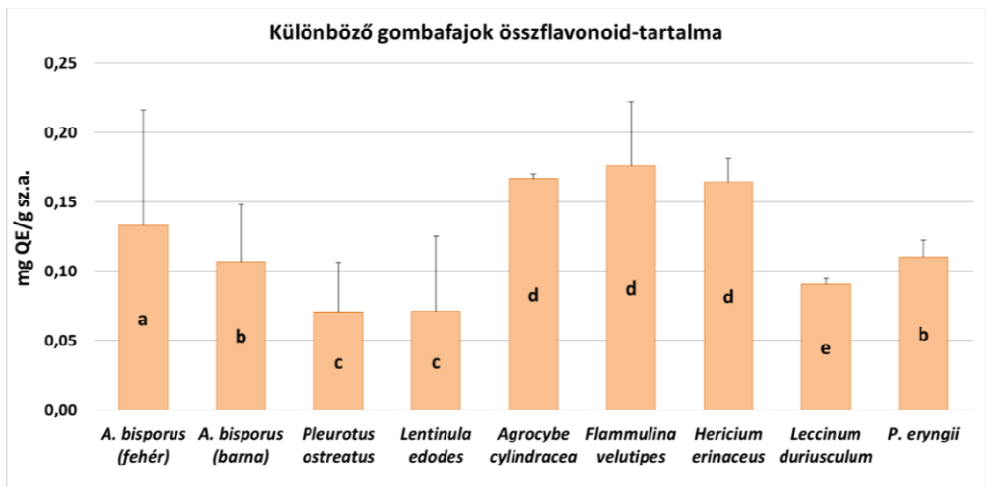


1. ábra – A vizsgált gombafajok összfenoloid-tartalmának átlaga (mg GSE/g sz.a.) és szórása.

Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a Tukey post hoc teszt alapján ($p \leq 0,05$)

A vadontermők közül a *Hericium erinaceus* magas fenoloid tartalmú még az *Agrocybe cylindracea* mellett. Az *Agaricus bisporus*-ra vonatkozó eredményeim, egybevágnak BARROS és munkatársai (2008) hasonló vizsgálatának adataival. Egyéb vizsgálatok eredményeivel (melyekben más előkészítési, kivonási vagy mérési protokollokat alkalmaztak) a mennyiségek nem összehasonlíthatóak, viszont az egyes fajok közötti arányok nagyon hasonlóak az általam mért arányokhoz (FERREIRA et al., 2009).

A flavonoid tartalom csak kb. 5-10 százaléka a teljes fenoloid mennyiségnek (**2. ábra**). Ezt a fenoloid/flavonoid arányt más kutatások is megerősítették (JAYAKUMAR ET AL. 2009).



2. ábra – A vizsgált gombafajok összflavonoid-tartalmának átlaga (mg QE/g sz.a.) és szórása

Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a Tukey post hoc teszt alapján ($p \leq 0,05$)

Egyes vadon termő fajok (tőkegomba, téli fülőke és süngomba) flavonoid mennyisége kiemelkedő a többi fajhoz képest. Az ördögszekérlaskagomba és a barna kalapú csiperke flavonoid tartalma megegyezik, míg a nyárfa érdestinóru kevesebbet tartalmaz. Meglepő, hogy a fehér csiperke flavonoid tartalma magasabbak, mint a barna csiperke esetében mért értékek. Az antioxidáns aktivitás szempontjából a vizsgált gombák a lekötött szabadgyök mennyisége alapján kiegyenlítették. A két végpontot a laskagombák képviselik, míg a késői laskagomba szabadgyök-kötőképessége gyengének mondható az eredmények tükrében, addig az ördögszekérlaskagomba képes a legnagyobb arányban lekötni a gyökmolekulákat. Az antioxidáns aktivitás átfogóbb jellemzése céljából EC_{50} értékeket is meghatároztam a vizsgálatok során (**2. táblázat**).

2. táblázat – A vizsgált gombafajok antioxidáns szabadgyök-kötőképessége és EC₅₀ értékei

Gombafaj	<i>A. bisporus</i> (fehér)	<i>A. bisporus</i> (barna)	<i>Pleurotus</i> <i>ostreatus</i>	<i>Lentinula</i> <i>edodes</i>	<i>Agrocybe</i> <i>cylindracea</i>
Szabadgyök-kötőképesség (%)	81,8 ± 7,36 ^a	80,8 ± 8,51 ^a	60,9 ± 18,43 ^b	86,4 ± 9,26 ^a	86,6 ± 0,33 ^a
EC ₅₀ érték (µg/ml)	144,7 ± 2,1	90,3 ± 0,06	256,6 ± 5,78	287,7 ± 3,9	69,2 ± 0,06
Gombafaj	<i>Flammulina</i> <i>velutipes</i>	<i>Hericium</i> <i>erinaceus</i>	<i>Leccinum</i> <i>duriusculum</i>	<i>Pleurotus</i> <i>eryngii</i>	Galluszsav (1 mg/ml)
Szabadgyök-kötőképesség (%)	86,92 ± 0,26 ^a	89,7 ± 0,21 ^a	90,4 ± 0,20 ^a	92,2 ± 0,13 ^a	88,0 ± 0,44 ^a
EC ₅₀ érték (µg/ml)	671,1 ± 24,9	429,8 ± 2,0	295,5 ± 2,8	344,9 ± 1,3	7,2 ± 0,8

Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a Tukey *post hoc* teszt alapján (p≤0,05)

Az EC₅₀ értékek alapján három különböző csoportot tudunk elkülöníteni, az első csoportba tartoznak a nagy hatáserősségű taxonok (a csiperkék és a déli tőkegomba). A következő csoportot azok a taxonok alkotják, melyek kivonatában valószínűleg egy meghatározó komponens antioxidáns hatású, de mennyisége limitált, ilyenek például jellegzetesen a ligninbontók (*L. edodes*, *Pleurotus* spp.) és a *Leccinum duriusculum*. A harmadik csoportot pedig a nagyon kis hatású fajok kivonatai alkotják, mint a *Flammulina velutipes*, illetve a *Hericium erinaceus*.

A fenoloid-tartalomban a csiperke törzsek között kiemelkedik az ‘S-856’-os törzs, a legkisebb fenoloid mennyiséget a barna ‘Heirloum’ csiperketörzsből mértem. A laskagomba törzsek közül az ‘1-0-30’-as törzsnek volt a legmagasabb fenoloid-tartalma, a legkisebb értékeket a ‘357-145’ és a ‘HK-35’ adta. A shiitake törzsek között a ‘40-80’-as törzs bizonyult a legértékesebbnek, míg a ‘KST-70’-es törzs tartalmazta a legkevesebb fenoloidot. A flavonoid-tartalom alapján az egyik legkiemelkedőbb törzs az ‘A-15’, a többi törzs ennek a mennyiségnek a felét, harmadát tartalmazza.

A laskatörzsek flavonoid-tartalma az '1-0-30'-as törzstől eltekintve elenyészőnek mondható, a legkisebb értékeket a '480'-as törzs adta.

A shiitake törzsek közül a '40-80'-as törzs tartalmazza a legkevesebbet, míg a 'KST-67'-es törzs a legtöbbet. Az antioxidáns aktivitásban a csiperke törzsek nagyon szórnak, a minták 67-90% között képesek kötni a szabadgyök molekulákat. A laskák antioxidáns aktivitása nagyon szóródik, a legrosszabb ('BL') és a legjobb ('H1') paraméterű törzs között közel 62%-nyi a különbség. A gyökkötő-képesség alapján a 'KST' jelzésű törzsek között nincs szignifikáns különbség, a '40-80'-as törzs extraktuma viszont közel 20%-kal kevesebb szabadgyök molekula megkötésére képes.

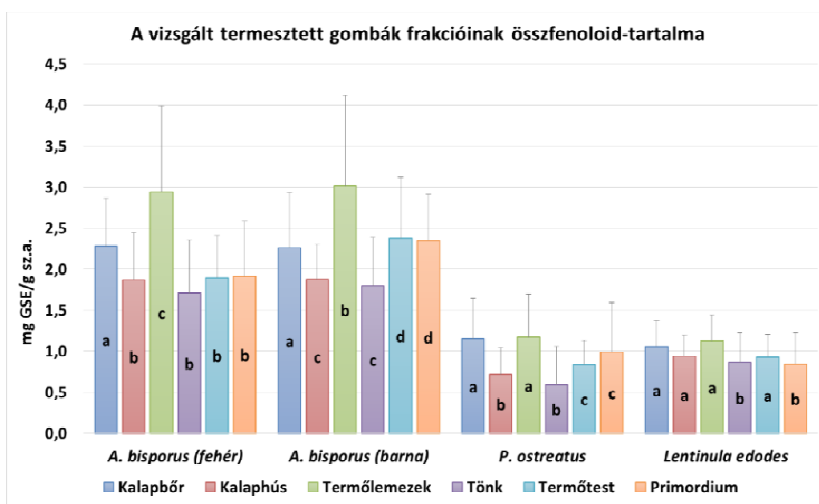
Az egyes termesztett fajokhoz tartozó törzseket osztályozva értékeltem. Az osztályozás alapját az összes törzs három vizsgált paraméterének kvartilisei adták (**3. táblázat**). A shiitake gombák adatai nem kerültek a táblázatokba, mert csupán három törzs adatai álltak rendelkezésre, ezért ezen adatok felhasználását a törzsmínősítés szempontjából mellőztem.

3. táblázat – Különböző gombafajok törzseinek minősítése a három vizsgált paraméter (összfenoloid, összflavonoid és szabadgyök-kötőképesség) alapján

Fehér csiperke					Laskagomba				
Fajta	Fenoloid	Flavonoid	A%	Minőség	Fajta	Fenoloid	Flavonoid	A%	Minőség
'A-15'	2,47 ± 0,04	0,328 ± 0,006	87,2 ± 0,2	magas	'1-0-30'	1,41 ± 0,07	0,180 ± 0,009	85,3 ± 0,4	kiemelkedő
'S-737'	2,71 ± 0,06	0,128 ± 0,016	90,4 ± 0,3	magas	'G24'	1,33 ± 0,05	0,091 ± 0,002	78,5 ± 1,6	kiemelkedő
'K-145'	2,09 ± 0,06	0,135 ± 0,010	88,6 ± 0,2	magas	'357-213'	1,17 ± 0,07	0,064 ± 0,005	65,2 ± 1,1	magas
'S-800'	1,86 ± 0,06	0,134 ± 0,005	76,6 ± 0,2	normál	'P80'	0,77 ± 0,04	0,068 ± 0,008	79,7 ± 3,6	magas
'L-901'	1,4 ± 0,03	0,093 ± 0,026	86,3 ± 0,3	normál	'H1'	0,69 ± 0,02	0,072 ± 0,009	90,2 ± 0,1	magas
'S-512'	2,07 ± 0,10	0,092 ± 0,04	71,5 ± 0,3	normál	'LSZ'	0,85 ± 0,04	0,090 ± 0,004	50,7 ± 2,1	magas
'A-XXX'	1,32 ± 0,04	0,055 ± 0,001	80,8 ± 0,3	alacsony	'BL'	1,33 ± 0,06	0,054 ± 0,003	58,4 ± 4,7	normál
'L-927'	1,25 ± 0,10	0,099 ± 0,005	73,0 ± 0,7	alacsony	'HK-35'	0,59 ± 0,03	0,104 ± 0,005	59,8 ± 1,2	normál
					'H7'	0,64 ± 0,02	0,068 ± 0,010	47,4 ± 2,4	normál
					'480'	0,66 ± 0,06	0,023 ± 0,006	79,2 ± 0,5	normál
					'ZN'	0,69 ± 0,03	0,050 ± 0,003	66,2 ± 5,6	normál
					'Po462'	0,62 ± 0,06	0,080 ± 0,006	45,0 ± 1,0	normál
Barna csiperke					'BAK'	0,84 ± 0,13	0,039 ± 0,005	28,2 ± 3,1	alacsony
Fajta	Fenoloid	Flavonoid	A%	Minőség	'DSN'	0,61 ± 0,05	0,050 ± 0,003	57,6 ± 4,3	alacsony
'S-856'	3,48 ± 0,01	0,164 ± 0,010	89,9 ± 0,2	kiemelkedő	'VL-80'	0,62 ± 0,08	0,053 ± 0,006	31,0 ± 0,9	alacsony
'Brown'	2,66 ± 0,07	0,050 ± 0,005	86,7 ± 0,2	magas	'Spooop'	0,72 ± 0,04	0,037 ± 0,002	41,7 ± 2,7	alacsony
'K-165'	2,54 ± 0,03	0,127 ± 0,009	86,9 ± 0,2	magas	'357-145'	0,61 ± 0,02	0,046 ± 0,006	52,7 ± 2,2	alacsony
'Broncho'	1,86 ± 0,03	0,127 ± 0,003	78,1 ± 0,3	normál					
'A-8'	2,61 ± 0,14	0,176 ± 0,014	67,7 ± 1,7	normál					
'Helrloum'	1,14 ± 0,05	0,099 ± 0,003	75,5 ± 0,2	alacsony					

3.2. A gombák termőtest részei

A frakciók közül kiemelkedik a kalapbőr és a termőlemezek, mert fenoloid szintjük szignifikánsan magasabb, mint a többi rész, illetve a teljes termőtest és a primordium (3. ábra). A primordium és a termőtestek fenoloid koncentrációi közel azonosak, hasonló következtetésre jutottak más kutatók is (BARROS et al., 2007; SOARES et al., 2009). A fejlődés során a micélium szövetekben végbemennek azok a folyamatok, melyek a bioaktív és egyéb primer anyagokat megfelelő mennyiségben felhalmozzák. A primordium képzés, illetve a „robbanásszerű” termőtestképződés, a víz és a már előre megtermelt anyagok beáramlásával lehet egyenértékű. A termőtest részek különböző fenoloid tartalmainak oka, feltételezhetően a gombák élettanában keresendő, mivel a kalapbőr a környezettel érintkező, legkülső réteg. A termőlemezek elsődleges feladata pedig a spórák képzése, érlelése és tárolása. A termőtest, kialakulása után igen gyorsan bomlásnak indul, ezért a termőlemezek fenoloid vegyületei védhetik a spórákat.



3. ábra – A vizsgált termesztett gombák frakcióinak összfenoloid-tartalma (átlag±szórás, mg GSE/g sz.a.)

Az eltérő betűk szignifikáns különbségeket jelölnek a Tukey post hoc teszt alapján ($p \leq 0,05$)

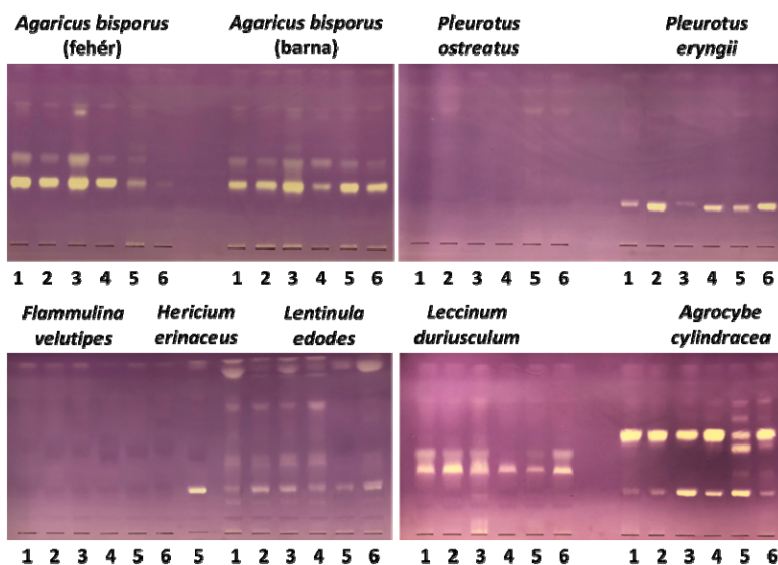
A vadon termő gombafajok termőtest részeinek vizsgálata is hasonló képet mutat, mint a termesztett fajok esetében. A tönk flavonoid tartalma minden vizsgált gombafaj esetében igen alacsony. A termőtest és a primordium értékei között eltérés figyelhető meg, a primordium valamivel (egyes fajok esetében kb. 10%-kal) több flavonoidot tartalmaz. Az antioxidáns aktivitás a különböző gombák kalap részei (kalapbőr-kalaphús-termőlemez) között kiegyenlítettnek mondható, de a kalaphús egyes taxonokban alacsonyabb értékű (pl.: fehér csiperke, késői laskagomba). A termesztett és vadon termő gombák között a vadon termők valamivel magasabb értékeket adtak, de antioxidáns szempontból, minden általam vizsgált faj magas antioxidáns aktivitást (75% felett) mutatott, kivéve a késői laskagombát. A termőtest részek között a szabadgyök kötőképeség erőssége alapján a következő sorrendet állíthatjuk fel: **termőlemez> kalapbőr> termőtest> primordium> tönk> kalaphús.**

3.3. Hatásvizsgálatok eredményei

A tartósító eljárások különböző módon befolyásolták a gombaminták fenoloid-, flavonoid-tartalmát és az antioxidáns aktivitását. A különböző tartósító eljárások vizsgálata alapján a legcélszerűbb tartósítási módszer (antioxidáns szempontból) a 60-90 °C közötti szárítás. A hőmérséklet emelkedésével a fenoloid anyagok mennyisége csekély mértékben nő, kivételt képez az *Agaricus bisporus*. A flavonoidok mennyisége a magas hőmérséklet hatására – jellemzően 90 °C-on – négyszeres növekedést mutatott, mindhárom gombafajnál. A hűtési és fagyasztási eljárások – a *Pleurotus ostreatus*-on kívül – nem befolyásolják az antioxidáns aktivitást, a fenoloid és flavonoid anyagokat azonban - fajtól és időtartamtól függően - egyes esetekben csökkentik. A különböző kémiai tartósító módszerek és a blansírozás (az *A. bisporus* jól viseli a blansírozást) ugyanakkor jelentősen csökkentették a gombák minden vizsgált paraméterét.

3.4. TLC-DPPH

A vékonyréteg kromatográfiás vizsgálatokat minden termesztett faj legértékesebb törzseivel és vadon termő fajokkal végeztem. A vizsgált gombafajok részeinek TLC-DPPH-val kapott antioxidáns profilja a **4. ábrán** látható.



4. ábra – A vizsgált gombák vékonyréteg kromatográfiás antioxidáns profilanalízise (1-kalapbőr, 2-kalaphús, 3-termőlemezek, 4- tönk, 5-termőtést, 6-primordium)

A gombák közül két fajnak (*Pleurotus ostreatus* és *Flammulina velutipes*) nem volt kimutatható antioxidáns hatású komponense. Ez jelentheti, hogy az adott gombában az esetlegesen antioxidáns hatású vegyület(ek)nek a detektálhatósági küszöb alatt van a koncentrációja, vagy a rétegen ezek nem stabil(ak). A derivatizálási módszerekkel elért eredmények alapján, az aktív vegyületeink nagy valószínűséggel fenolos jellegűek, melyek egyes esetekben glikolizáltak és/vagy amin-csoportot tartalmaznak. A többi gombafaj esetében is hasonló következtetést vonhatunk le.

3.5. HPLC-DPPH

A mintáimat ún. off-line DPPH-HPLC módszerrel vizsgáltam, vagyis injektálás előtt megfelelő arányban adagoltam a mintához a DPPH oldatot vagy a tiszta metanolt (kontroll) (RIETHMÜLLER et al., 2016). Eredményeim alapján a gombák vizsgálatára is hasznosnak tartom a DPPH-HPLC módszert, amellyel célirányosan lehet az antioxidáns aktivitású vegyületeket keresni, akár ismeretlen minta esetén is, természetesen megfelelő kromatográfias felbontás biztosítása mellett. Megállapítható, hogy az egyes gombáknál a DPPH-HPLC-vel feltárt sajátosságok egybevágóak a vékonyréteg kromatográfias (TLC-DPPH) eredményekkel. A kromatogramok alapján a nemzetségeken belül nem található nagy különbség az antioxidáns profilok között, de a nemzetségek között már vannak ilyenek. Olyan vegyületet is kimutattam, amely az általam vizsgált gombafajok többségében megtalálható.

3.6. Az izolált vegyület nagyműszeres vizsgálatainak eredményei (ESI-TOF-MS, NMR és CD)

A további vizsgálatokhoz a fehér csiperke termőlemezőnek, az ördögszekér-laskagomba primordiumának, a shiitake kalapbőrének, a nyárfá érdestinóru termőlemezőnek és a déli tőkegomba termőtestének kivonatát választottam az aktív anyagok jellemzésére, mivel a TLC-DPPH tesztek eredményei alapján ezek antioxidáns profilja a legváltozatosabb. Az izolálást, így főként a vizsgált gombák termőlemezőéből végeztem el.

A sikeres SPE eljárást a déli tőkegomba egyesített mintájával (kalapbőr – kalaphús – termőlemezők – tönk) végeztem, mivel az egyes részek azonos aktív anyagokat tartalmaztak. Az izolált anyag tömegét a pozitív és negatív módban felvett spektrumok alapján határoztuk meg. A minta főkomponense egy **M= 246 Da** tömegű vegyület. A pontos tömegmérés alapján a protonált molekulaion mért tömege: $[M+H]^+ = 247,1084 \text{ Da}$; összegképlet $[M+H]^+ = C_{13}H_{15}N_2O_3^+$. Elméleti tömeg: **247,1083 Da**.

A negatív és pozitív tömegspektrumok, illetve a fragmentációs adatok alapján levonható szerkezeti tulajdonságok:

- A semleges molekulában (**M=246 Da**), összegképlet: $C_{13}H_{14}N_2O_3$ a gyűrűk és kettős kötések együttes száma 8,
- indol-váz jelenléte valószínűsíthető,
- NH_2 -csoport jelenléte valószínűsíthető,
- karbonil-csoport jelenléte valószínűsíthető,
- még egy gyűrű vagy kettős kötés valószínűsíthető.

Az izolált komponens, a *Brunnein-B* nevű vegyület diasztereomere. Diasztereomereknek nevezzük az egymással nem-tükörképi viszonyban álló, egymással fedésbe nem hozható molekulákat. (6. ábra).

Sorszám	1H (δ , ppm)	^{13}C (δ , ppm)
1	4.65 (q, $J = 7.0$ Hz, 1H)	51.2
1'	1.71 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H)	17.2
3	3.94 (dd, $J = 12.1, 4.9$ Hz, 1H)	59.7
3'	-	173.7
4	3.38 (dd, $J = 15.6, 4.9$ Hz, 1H)	24.4
	2.98 (ddd, $J = 15.6, 12.1, 2.5$ Hz, 1H)	
4a	-	107.7
4b	-	121.4
5	7.28 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H)	119.6
6	6.62 (dd, $J = 8.5, 2.1$ Hz, 1H)	110.7
7	-	154.9
8	6.76 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H)	97.8
8a	-	139.7
9a	-	129.6

6. ábra – Az izolált vegyület szerkezete, számozása és teljes 1H és ^{13}C NMR jelhozzárendelése deuterált metanolban, 600 MHz-en

A *Brunnein-B* vegyületet a barna pókhálós gombában (*Cortinarius brunneus* (Pers.) Fr. 1838) fedezték fel és írták le először (TEICHERT et al., 2007). Az általunk izolált új anyag egy sárga kristályos vegyület, mely vízben és MeOH-ban jól oldódik, hőstabil és markáns antioxidáns hatású. A vegyület 91,86 %-os gyök-kötőképességű, melyhez 119,04 $\mu g/ml$ -es EC_{50} érték párosul.

3.7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

I. A gombafajokra alkalmazható minta-előkészítési módszereket összehasonlítottam és a standardizálási lehetőségek egy részét feltártam. Új minta-előkészítési módszert vezettem be a pilotéciumos gombák esetében: a frakcionálást. A hagyományos metodika helyett a négy, morfológiailag jól elkülöníthető termőtest részre helyeztem a hangsúlyt. A négy elkülönülő rész: a kalapbőr, a kalaphús, a termőlemezek és a tönk.

II. A vizsgált termesztett gombák törzseit vizsgáltam és hasonlítottam össze (*A. bisporus* – nyolc törzs, barna *A. bisporus* – hat törzs, *P. ostreatus* – tizenhét törzs, *L. edodes* – három törzs) három biokémiai paraméter alapján, illetve egy törzsmínősítő rendszert alakítottam ki (amely bővíthető).

III. A különböző eljárások közül a legkíméletesebbnek a különböző szárító eljárások bizonyultak, míg a legnagyobb csökkenést a kémiai tartósító módszerek okozták az antioxidáns anyagok mennyiségében.

IV. Kidolgoztam egy, a gombákra alkalmazható vékonyréteg kromatográfiás eljárást, illetve egy izolálási protokollt alakítottam ki szilárd fázisú extrakcióhoz. Meghatároztam a vizsgált gombafajok, illetve termőtest részeik antioxidáns profiljait.

V. Az eredetileg növényi mintákra kidolgozott DPPH-HPLC módszer transzferáltam és optimalizáltam különböző gombamintákra. Meghatároztam a vizsgált gombákban található aktív anyagok kromatográfiás jellemzőit és mennyiségi szempontból is összehasonlítottam ezeket.

VI. Első alkalommal publikáltam a nyárfa érdestinóru (*Leccinum duriusculum*) antioxidáns aktivitását, illetve a különböző termőtest részek EC₅₀ értékeit. A déli tőkegomba (*Agrocybe cylindracea* syn. *Agrocybe aegerita*) egyik meghatározó antioxidáns vegyületét izoláltam és sikeresen meghatároztuk a kémiai szerkezetét. A vegyület összegképlete: C₁₃H₁₄N₂O₃, mely a *Brunnein-B* nevű vegyületnek a diasztereomere.

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A nagygombák termőtestének tradicionális felosztását (kalap-tönk) elhagytam (FERREIRA et al., 2007), mivel a termőtest, négy, jól elkülöníthető részre bontható morfológiailag, attól függetlenül, hogy „csupán” gombafonalak szövedékeként definiált. A négy morfológiai rész a legtöbb bazídiumos (pilotécium típusú termőtestű) nagygombafajnál megtalálható, s ezek a kalapbőr, a kalaphús, a termőlemezek és a tönk (KALAC, 2009).

Számos, a szakirodalomban megtalálható extrakciós eljárást használtam és vizsgáltam különböző szempontok szerint. Vizsgálataim alapján, illetve más kutatók vizsgálatait is figyelembe véve, arra a következtetésre jutottam, hogy a metanolos extrakciós eljárások jelentősen több antioxidáns anyag kivonására alkalmasak, mint az egyéb oldószert alkalmazók (SMITH et al., 2015). Az általam használt eljárás (mechanikai rázás melegítéssel) alapanyag és időigénye kisebb, mint a legtöbb más extrakciós eljárásé.

Vizsgálataim eredményeként megállapítható, hogy a kalapbőr és a termőlemezek fenoloid-tartalmuk és antioxidáns aktivitásuk alapján, a termőtest „leghasznosabb” részei. A kalaphús, megközelítőleg a tönkkel egyenértékű, de egyes taxonok (pl.: *Leccinum duriusculum*, *Lentinula edodes*) esetében a talált értékek nem elhanyagolhatók. Egységnyi kalapbőr, illetve termőlemez, egyes esetekben kétszer olyan mennyiségben tartalmaz bioaktív vegyületeket, mint a termőtest többi része. Igazolást nyert, hogy a termőtest a hatóanyag-tartalom alapján egy súlyozott átlagot képvisel. Ezen felosztás révén a gombák hatóanyag-kutatási megközelítése is megváltozhat, mivel a gombák egyes részei nagyobb koncentrációban tartalmaznak bioaktív anyagokat. Ezáltal pedig könnyebben izolálhatóak, és kisebb friss mennyiségű mintából indulhatunk ki.

A szakirodalomban található eluensek helyett (CAI et al., 2013), egy, ezektől eltérő eluenszt fejlesztettem ki (ACN-H₂O-CH₃COOH, 75:25:3), mely a metanolos kivonatok megfelelő felbontás melletti vizsgálatát, s az adott gombafaj antioxidáns profiljának elemzését teszi lehetővé. E vizsgálati eredmények nem találtak kiugró különbségeket (főleg minőségi tekintetben) a nemzetségeken belül az antioxidáns profilok között, a nemzetségek összehasonlításakor azonban jelentős minőségbeli különbségeket tártam fel. A gombafajok TLC-DPPH profilja alapján további vegyületek izolálhatók, illetve vizsgálhatók.

Az *Agrocybe cylindracea* kivonataival végeztem el a különböző izolálási és tisztítási lépéseket, melyekkel a kalapbőr, a kalaphús, a termőlemezek és a tönk egyesített extraktumából sikeresen izoláltam egy antioxidáns vegyületet, mely a *Brunnein-B* diasztereomerének bizonyult.

Az eddig gyógynövényekre és élelmiszerekre alkalmazott off-line HPLC-DPPH módszert alkalmaztam munkám során, mellyel sikerült kiszűrni az egyes gombafajok jellemző antioxidáns vegyületeit (RIETHMÜLLER et al., 2016). A jellegzetes vegyületek mennyiségét (szemikvantitatívan) is meghatároztam a különböző termőtest részekben. A csiperkék és a déli tőkegomba anyagait megközelítőleg sikerült feltérképezni, ezek az összfenoloid-vizsgálatok eredményeivel hasonló eloszlást mutattak. A többi vizsgált gomba esetében egy olyan vegyületet tudtam meghatározni, melynek mennyiségi eloszlása nem követi a fenoloidokét, így e taxonokban más, eddig nem kimutatott vegyületek is meghatározóak lehetnek.

A Magyarországon is jelentős három különböző termesztett gombafaj: a fehér és barna kalapú csiperke, a laskagomba és a shiitake különböző törzseit is vizsgáltam. A csiperketörzsek bizonyultak a legjobb antioxidáns hatású gombáknak, őket követték a shiitake törzsei, míg a laskagomba törzsek a

leggyengébbek az antioxidáns hatás alapján. A törzseket összehasonlítottam és erre egy faj specifikus, minősítő rendszert alakítottam ki.

A gombatorzsek ilyen vizsgálatai és rangsorolásuk a későbbiekben hasznos információt nyújthatnak a gomba nemesítéssel foglalkozó szakemberek számára is. Az eredmények alapján olyan adatbázist hoztam létre, mely a vadon termő gombák gyűjtőit, a gombatermesztőket-nemesítőket és a fogyasztókat is tájékoztathatják.

A gombakészítmények fogyasztása (legyen az szárított, konzervált vagy mélyfagyasztott formájú) világszerte emelkedik. Ebből kiindulva vizsgáltam a gombák antioxidáns paramétereinek alakulását, számos tartósítási forma (hűtés-fagyasztás-szárítás-kémiai tartósítások) alkalmazása nyomán. Az eredmények szerint a szárítási módszerek kímélik meg leginkább az antioxidáns anyagokat. A hűtés és fagyasztás számottevően nem vagy alig befolyásolja ezeket a paramétereket. A kémiai tartósítás minden általam kipróbált módszere azonban jelentősen csökkentette az antioxidáns vegyületek mennyiségeit és minőségét, amit más kutatások is alátámasztanak (FERNANDES et al., 2013; JAFRI et al., 2013). A kémiai tartósítási módszerek legkevésbé az *Agaricus bisporus* termőtesteit károsították.

FELHASZNÁLT IRODALMAK JEGYZÉKE

- ALVAREZ-PARRILLA E. DE LA ROSA L. A.; MARTÍNEZ, N. R.; GONZÁLEZ AGUILAR, G. A. (2007) Total phenols and antioxidant activity of commercial and wild mushrooms from Chihuahua, Mexico. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 5 (5) 329-334. p.
- BARROS, L.; BAPTISTA, P.; ESTEVINHO, L.M.; FERREIRA, I. C. F. R. (2007) Effect of Fruiting Body Maturity Stage on Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Lactarius sp.* Mushrooms. *J. Agric. Food Chem.* 55: 8766–8771. p.
- BARROS, L.; FALCAO, S.; BAPTISTA, P.; FREIRE, C.; VILAS-BOAS, M.; FERREIRA, I. C. F. R. (2008) Antioxidant activity of *Agaricus spp.* mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Food Chem.* 111: 61–66. p.
- BLOIS, M. S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.* 181: 1199-1200. p.
- CAI, H.; LIU, X.; CHEN, Z.; LIAO, S.; ZOU, Y. (2013) Isolation, purification and identification of nine chemical compounds from *Flammulina velutipes* fruiting bodies. *Food Chem.* 141 (3) 2873-2879. p.
- CHEUNG, P. C. K. (2010) The nutritional and health benefits of mushrooms. *Nutr. Bull.* 35: 292–299. p.
- FERNANDES, A.; BARROS, L.; BARREIRA, J. C. M.; ANTONIO, A. L.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; MARTINS, A.; FERREIRA, I. C. F. R. (2013) Effects of different processing technologies on chemical and antioxidant parameters of *Macrolepiota procera* wild mushroom. *LWT – Food Sci. Tech.* 54 (2) 493-499. p.
- FERREIRA, I. C. F. R.; BAPTISTA, P.; VILAS-BOAS, M.; BARROS, L. (2007) Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: individual cap and stipe activity. *Food Chem.* 100: 1511-1516. p.
- FERREIRA, I. C. F. R.; BARROS, L.; ABREU, R. M. V. (2009) Antioxidants in wild mushrooms. *Curr. Med. Chem.* 16, 1543-1560.
- GURSOY, N.; SARIKURKCU, C.; CENGIZ, M.; SOLAK, M. H. (2009) Antioxidant activities, metal contents, total phenolics and flavonoids of seven *Morchella* species *Food Chem. Tox.* 47 (9) 2381-2388. p.
- JAFRI, M.; JHA, A.; BUNKAR, D. S.; RAM, R. C. (2013) Quality retention of oyster mushrooms (*Pleurotus florida*) by a combination of chemical treatments and modified atmosphere packaging. *Postharvest Biol. Tech.* 76: 112-118. p.

- JAYAKUMAR, T.; THOMAS, P. A.; GERALDINE, P. (2009) In-vitro antioxidant activities of an ethanolic extract of the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus*. *Innov. Food Sci. Emerg.* 10: 228-234. p.
- KALAC, P. (2009) Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: a review. *Food Chem* 113: 9-16. p.
- LI, H.; PARK, S.; MOON, B.; YOO, Y.-B.; LEE, Y.-W.; LEE, C. (2012) Targeted phenolic analysis in *Hericium erinaceum* and its antioxidant activities. *Food Sci. Biotechnol.* 21 (3) 881-888. p.
- RIETHMÜLLER, E.; KÖNCZÖL, A.; SZAKÁL, D.; VÉGH, K.; BALOGH, G. T.; KÉRY, A. (2016) HPLC-DPPH screening method for evaluation of antioxidant compounds in *Corylus* species. *Nat. Prod. Commun.* 11: 641-644. p.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticul.* 16: 144-158. p.
- SMITH, H.; DOYLE, S.; MURPHY, R. (2015) Filamentous fungi as a source of natural antioxidants. *Food Chem.* 185: 389-397. p.
- SOARES, A. A.; DE SOUZA, C. G. M.; DANIEL, F. M.; FERRARI, G. P.; DA COSTA, S. M. G.; PERALTA, R. M. (2009) Antioxidant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murril) in two stages of maturity. *Food Chem.* 112: 775-781. p.
- TEICHERT, A.; SCHMIDT, J.; PORZEL, A.; ARNOLD, N.; WESSJOHANN, L. (2007) Brunneins A–C, β -Carboline Alkaloids from *Cortinarius brunneus*. *J. Nat. Prod.* 70: 1529–1531. p.
- WASSER, P. S. (2011) Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 89: 1323–1332. p.

AZ ÉRTEKEZÉS TÉMÁJÁBAN KÉSZÜLT PUBLIKÁCIÓK

IF-es folyóiratcikk

KRÜZSELYI, D.; VETTER, J. (2014) Complex chemical evaluation of the summer truffle (*Tuber aestivum* Vittadini) fruit bodies. *J. App. Bot. Food Qual.* 87: 291 – 295. p.

KRÜZSELYI, D.; KOVÁCS, D.; VETTER, J. (2016) Chemical analysis of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) fruitbodies. *Acta Aliment.* 45: 20-27. p.

BÓBICS, R.; KRÜZSELYI, D.; VETTER, J. (2016) Nitrate content in a collection of higher mushrooms. *J. Sci. Food Agric.* 96: 430-436. p.

KRÜZSELYI, D.; VETTER, J.; OTT, G. P.; MÓRICZ, M. Á. (2016) Investigation of antibacterial components of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by direct bioautography and HPLC–DAD–MS. *J. Liq. Chromatogr. R. T.* 39: 298-302. p.

Nem IF-os folyóiratcikk (magyar nyelvű)

KRÜZSELYI, D. (2011) Bazidiumos nagygombák antioxidáns hatású bioaktív anyagai *Mikológiai közlemények*, 50 (2) 219-230. p.

KRÜZSELYI, D. (2014) Egy kis mikológia. Új utakon a gombakutatás. *Élet és tudomány*, 69 (24) 745-747. p.

KRÜZSELYI, D.; VETTER, J. (2014) Egy kis mikrobiokémia. Antibiotikumok az ehető gombákban. *Élet és tudomány* 69 (45) 1424-1426. p.

KRÜZSELYI, D.; MÓRICZ, M. Á. (2017) A biológiai aktivitás kimutatásának újabb módjai. A jövő tesztjei: direkt bioautográfia. *Élet és tudomány* 72 (46) 1446-1448. p.

Konferencia kiadványok (angol nyelvű, abstract)

KRÜZSELYI, D.; VETTER, J.; OTT, P. G.; MÓRICZ, M. Á. (2015) The encounter of macrofungi research and direct bioautography. *The XXXVIIIth Symposium Chromatographic Methods Of Investigating The Organic Compounds Conference, Szczyrk, Poland*, 2015. 05. 27-29

KRÜZSELYI, D.; VETTER, J.; OTT, P. G.; MÓRICZ, M. Á. (2015) Detection of bioactive substances with direct bioautography in preserved oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) *10th Balaton Symposium, Siófok*, 2015.09.02-04.

KRÜZSELYI, D.; VETTER, J.; OTT, P. G.; MORLOCK, G. E.; MÓRICZ, M. Á. (2017) Effect-directed analyses of *Agrocybe cylindracea* bioactive compounds. *International Symposium For High-performance Thin-layer Chromatography, Berlin*, 2017. 07. 4-8.

KRÜZSELYI, D.; VETTER, J.; OTT, P. G.; MÓRICZ, M. Á. (2017) Determination of antioxidants of fungi with different DPPH-based scavenging assay. *11th Balaton Symposium, Siófok*, 2017.09.06-08

Konferencia kiadványok (magyar nyelvű, absztrakt)

KRÜZSELYI, D. (2012) A kalapbőr, mint lehetséges antioxidáns-forrás = Cap skin as possible source of antioxidants. *Mikológiai közlemények*, 51 (1) 145-146. p.

KRÜZSELYI, D. (2012) A *Lentinula edodes*, az *Agaricus bisporus* és az *A. subrufescens* C-vitamin-tartalmának meghatározásához használt öt módszer összehasonlítása = A comparison of five methods for determination of vitamin C in *Lentinula edodes*, *Agaricus bisporus* and *A. subrufescens* mushrooms. *Mikológiai közlemények*, 51 (1) 146-147. p.

KRÜZSELYI, D. (2012) A *Lentinula edodes* és az *Agaricus bisporus* primordiumok és termőtestek antioxidáns-aktivitása és fenoloid-tartalma = Comparative study for antioxidant capacities and phenoloid contents in primordia and fruit-bodies of *Lentinula edodes* and *Agaricus bisporus*. *Mikológiai közlemények*, 51 (1) 147-149. p.

VETTER, J.; KRÜZSELYI, D. (2012) Néhány termesztett gombák bioaktív anyagairól = Bioactive substances of some cultivated mushrooms. *Mikológiai közlemények*, 51 (1) 166-167. p.

KRÜZSELYI, D.; VETTER, J.; OTT, P. G.; MÓRICZ, M. Á. (2014) Csiperkegomba (*Agaricus bisporus*) bioaktív anyagainak kimutatása vékonyréteg kromatográfias eljárásokkal. *Elválasztástudományi Vándorgyűlés, Egerszalók*, 2014. XI. 12-14.

KRÜZSELYI, D. (2015) Egyes bazídiumos nagygombák antibakteriális anyagai. *Tavaszi Szél Doktorandusz Konferencia, Eger*, 2015. IV.10-12.

KRÜZSELYI, D.; VETTER, J.; OTT, P. G.; MÓRICZ, M. Á. (2016) Nyárfá érdestinóru (*Leccinum duriusculum*) antibakteriális anyagainak direkt bioautográfias kimutatása és karakterizálása. *Elválasztástudományi Vándorgyűlés, Kecskemét*, 2016. XI. 9-11.

Egyéb értékelhető IF-es cikk

- MÓRICZ, M. Á.; OTT, G. P.; HÁBE, T. T.; DARCSI, A.; BÖSZÖRMÉNYI, A.; ALBERTI, Á.; KRÜZSELYI, D.; CSONTOS, P.; BÉNI, SZ.; MORLOCK, E. G. (2016) Effect-directed discovery of bioactive compounds followed by highly targeted characterization, isolation and identification, exemplarily shown for *Solidago virgaurea*. *Anal. Chem.* 88: 8202-8209. p.
- BÓKONYI, V.; MÓRICZ, Á. M.; TÓTH, Z.; GÁL, Z.; KURALI, A.; MIKÓ, ZS.; PÁSZTOR, K.; SZEDERKÉNYI, M.; TÓTH, Z.; UJSZEGI, J.; ÜVEGES, B.; KRÜZSELYI, D.; CAPON, R. J.; HOI, H.; HETTYEY, A. (2016) Variation in Chemical Defense Among Natural Populations of Common Toad, *Bufo bufo*, Tadpoles: the Role of Environmental Factors. *J. Chem. Ecol.* 42: 329-338. p.
- KRÜZSELYI, D.; NAGY, R.; OTT, G. P.; MÓRICZ, M. Á. (2016) Rapid, bioassay-guided process for the detection and identification of antibacterial Neem oil compounds. *J. Chromatogr. Sci.* 54: 1084-1089. p.
- MÓRICZ, M. Á.; KRÜZSELYI, D.; ALBERTI, Á.; DARCSI, A.; HORVÁTH, GY.; CSONTOS, P.; BÉNI, SZ.; OTT, G. P. (2017) Layer chromatography-bioassays directed screening and identification of antibacterial compounds from Scotch thistle. *J. Chromatogr. A.* 1524: 266-272. p.
- UJSZEGI, J.; MÓRICZ, M. Á.; KRÜZSELYI, D.; HETTYEY, A. (2017) Skin toxin production of toads changes during early ontogeny but is not adjusted to the microbiota of the aquatic environment. *Evol. Ecol.* 31 (6) 925-936. p.
- BÓKONYI, V.; MIKÓ, ZS.; MÓRICZ, Á.; KRÜZSELYI, D.; HETTYEY, A. (2017) Chronic exposure to a glyphosate-based herbicide makes toad larvae more toxic. *P. Roy. Soc. B-Biol. Sci.* 284 (1858) DOI: 10.1098/rspb.2017.0493.
- ÜVEGES, B.; FERA, G.; MÓRICZ, M. Á.; KRÜZSELYI, D.; BÓKONYI, V.; HETTYEY, A. (2017) Age- and environment-dependent changes in chemical defences of larval and post-metamorphic toads. *BMC Evol. Biol.* <https://doi.org/10.1186/s12862-017-0956-5>
- MÓRICZ, M. Á.; KRÜZSELYI, D.; OTT, G. P. (2017) Separation and detection of bioactive essential oil components by overpressured layer chromatography coupled with bioactivity tests. *JPC – J. Planar Chromat.* 30 (2) 121-125. p.