DOHÁNY EREDETŰ NYERSANYAGOK MINŐSÉGÉNEK ÉS FELHASZNÁLHATÓSÁGÁNAK BIOKÉMIAI ÉS MIKROBIOLÓGIAI JELLEMZÉSE

SZEDLJAK ILDIKÓ

doktori értekezésének tézisei

Készült a Budapesti Corvinus Egyetem

Alkalmazott Kémia Tanszékén

Budapest, 2011

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

tudományága: Élelmiszertudományok

vezetője: **Dr. Fodor Péter**
Egyetemi tanár, az MTA doktora
Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar
Alkalmazott Kémia Tanszék

Témavezető: **Dr. Kosáry Judit**
Egyetemi tanár, az MTA doktora
Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Kar
Alkalmazott Kémia Tanszék

A doktori iskola- és a témavezető jóváhagyó aláírása:

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori szabályzatában előírt valamennyi feltételének eleget tett, a műhelyvita során elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés nyilvános vitára bocsátható.

....

Az iskolavezető jóváhagyása A témavezető jóváhagyása

1. A KUTATÁS ELŐZMÉNYEI, KITŰZÖTT CÉLOK

1.1 A kutatás előzményei

A dohány (*Nicotiana tabacum* L.) ősrégi élvezeti cikk. Nevét Linnétől kapta, termesztése és feldolgozása 1867 óta állami monopólium. A dohány alkaloidjainak, főleg a nikotinnak köszönheti sikerét, kettős nyugtató és izgató hatása miatt speciális jó érzést biztosít. A fokozott gépesítés, műszerezettség következtében a dohány fermentálás folyamatának időtartama lerövidült, valamint a környezeti feltételek szabályozottabbá és könnyebben ellenőrizhetőbbé váltak. Ezzel párhuzamosan a növénynemesítők egyre újabb fajtákat szolgáltatnak a köztermesztés számára, ami azt teszi szükségessé, hogy nyomon kövessük és ellenőrizzük az új fajták minőségének és összetételének formálódását azon feldolgozási fázisokban, (szárítás, fermentálás), amelyek legmarkánsabban módosítják és teszik alkalmassá a zöld levél dohányipari végtermékké való alakulását. Ennek következtében dohányipari szempontból ismételten időszerűvé vált annak tisztázása, hogy a megváltozott körülmények között milyen mikrobiológiai és biokémiai változásokhoz adottak ezek a feltételek.

Ugyanakkor ezek a vizsgálatok azt is lehetővé tehetik, hogy a dohánynövény egyéb irányú felhasználásának lehetőségei is megfontolhatóak legyenek. Ez azért is előnyös lehet, mert a dohányzás okozta egészségártalmak miatt visszaszorulóban lévő dohányipar kisebb volumenű felhasználó kapacitása miatt lehetőség lenne ennek a gazdaságosan termeszthető növénynek más, kedvező felhasználásaira. Az egyéb irányú felhasználási lehetőségek közül korábban a nikotin kinyerése és mezőgazdasági, valamint gyógyszeripari alkalmazása tűnt a legfontosabbnak.

Napjainkban egyre kevésbé látszik kizártnak, hogy a dohánynövény kedvező termesztési tulajdonságai, valamint az emberi felhasználás szempontjából megfelelő összetételű és aránylag könnyen izolálható fehérjetartalma miatt fehérjealapú élelmiszer kiegészítésre, illetve takarmányozásra is felhasználhatóvá válhat. Még az sincs kizárva, hogy a fehérjetartalom elkülönítése után a dohánylevél dohányipari célokra is felhasználható lehet.

Doktori értekezésemben dohányeredetű nyersanyagokat jellemeztem biokémiai és mikrobiológiai módszerekkel. Munkahelyemen, a BCE ÉTK Gabona- és Iparinövény Technológia Tanszéken a különböző típusú dohánylevelek vizsgálatának nagy hagyománya van, és szoros kapcsolatot ápolnak a dohányiparral. A növényi eredetű élelmiszeripari alapanyagok biokémiai jellemzésével doktori értekezésem témavezetője Dr. Kosáry Judit egyetemi tanár több, mint egy évtizede foglalkozik a BCE ÉTK Alkalmazott Kémia Tanszéken. Ugyanis a vegetációs időszakban, majd a tárolás során az

enzimek egy részének (például: peroxidáz, polifenol-oxidáz, lipoxigenáz enzimeknek) fontos szerepe van az abiotikus és biotikus stressz hatások kivédésében, illetve más, az élelmiszeripari és egyéb növényi eredetű alapanyagok minőségének befolyásolásában. Az említett idő alatt „A lipoxigenázok izoenzim összetételének változásai a növényekben" címmel immár tízrészes sorozatot jelentetett meg az Olaj, Szappan, Kozmetika című folyóiratban, valamint ebben a témakörben más folyóiratokban körülbelül ugyanannyi közleménye jelent meg. „A növényi eredetű élelmiszeripari nyersanyagok minőségének enzimes jellemzése" című, az OTKA K63162 sz. kutatási projektnek témavezetője volt (2006-2009).

1.2 Célkitűzések

A dohánytípusok közül három Virginia és öt Burley fajta termesztését és elsődleges feldolgozását, valamint mind a saját, mind pedig üzemi termesztésű dohánylevelek biokémiai és mikrobiológiai vizsgálatát terveztem.

Az Alkalmazott Kémia Tanszék és a Gabona- és Iparinövény Technológia Tanszék korábbi eredményeire támaszkodva az alábbi célokat tűztem ki:

1. A dohányiparban mostanában termesztett, összesen nyolc Virginia és Burley dohányfajta saját termesztése során az irodalomban eddig nem igen ismert módon biokémiai módszerekkel nyomon kívántam követni az oxidatív stresszre jellemző enzimek (peroxidáz, polifenol-oxidáz, lipoxigenáz) aktivitását, illetve a dohányminőség kialakulásában fontos szerepet játszó vízben oldható polifenol tartalmat, valamint a dohánynövény esetleges élelmiszeripari felhasználása szempontjából döntő fontosságú vízben oldható fehérjetartalmat.
2. Nyomon kívántam követni a különböző szárpozícióban elhelyezkedő dohánylevelek biokémiai jellemzőinek változásait a termesztés során.
3. Vizsgálni kívántam, hogy egyes növényekhez hasonlóan a dohánynövényfajták megkülönböztethetőek-e a lipoxigenáz izoenzim összetételük alapján.
4. A saját termesztésű dohánylevelek szárítása során a magas cukortartalmú Virginia fajtára az általánosan alkalmazott, drága, mesterséges szárítás kiváltására egy, a természetes és mesterséges szárítás paramétereinek felhasználásával egy kombinált módszer kidolgozását tűztem ki célul, hogy ezt a módszert valamennyi saját termesztésű dohányfajtámon kipróbáljam. Célul tűztem ki az általam kombinált módszernek elnevezett eljárás és a természetes szárítás eredményeinek összehasonlítását.

5. A fent említett vizsgálatok során az esetleges élelmiszeripari felhasználás szempontjából fontos vízben oldható fehérjetartalom alakulásából következtetéseket kívántam levonni a termesztés, illetve a szárítás körülményeinek megválasztása szempontjából.
6. Célul tűztem ki a kétféle szárítási módszer utáni fermentációs periódusban a biokémiai vizsgálatok, valamint a mikrobiológiai vizsgálatok eredményeinek összehasonlítását. Ez utóbbiban a Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék segítségére számítottam.
7. A saját termesztésű dohánynövényekkel kapcsolatos vizsgálataim előkísérleteként célul tűztem ki üzemi termesztésű dohány anyalevelek biokémiai és mikrobiológiai vizsgálatát az üzemi gépi fermentálás során.

2. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A dolgozat kísérleti része a Budapesti Corvinus Egyetem, Alkalmazott Kémia Tanszékén (tanszékvezető: Dr. Fodor Péter) történt. Egyes vizsgálatokat a Gabona- és Iparinövény Technológia Tanszékén (megbízott tanszékvezető: Dr. Somogyi László), a Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszékén (tanszékvezető: Dr. Maráz Anna), valamint a szolnoki dohányfermentáló üzemben (Continental Tobacco, Dohányfermentáló Zrt.) végeztem.

A vizsgálataim során az alkalmazott statisztikai módszerek a két dohányfajta csoportnál a következők voltak: átlag- és szórásszámítás, valamint kéttényezős variancia-analízis, ismétlés nélkül.

A mikrobiológiai vizsgálataimat kivéve valamennyi bemutatott eredmény három parallel mintavételből és mintánként három parallel mérés átlagából adódott. Az eredmények szórása minden esetben ±5% értékhatáron belül volt. Az egyedi szórásértékeknek az ábrákon való feltüntetésétől az áttekinthetőség érdekében eltekintettem.

A kéttényezős variancia-analízis elvégzésével tisztázni kívántam azt, hogy az egyes tényezőknek, úgy, mint a dohányfajtának és a szárpozíciónak milyen súlyú hatása van a POX, PPO, PF és vízben oldható fehérjetartalom alakulására a termesztési és a feldolgozási periódusban.

2.1 Saját termesztésű dohánynövényeim vizsgálata

Vegetációs időszak

Saját termesztési kísérleteimhez a köztermesztésben legnagyobb területen termesztett dohányfajtákat választottam ki. A dohánypalánták két fajtacsoporthoz tartoztak. Azok Virginia és

Burley típushoz tartozó fajták voltak, amelyeket a Szolnoki Fermentáló Üzemtől kaptam. A palánták kiültetésétől az első mintavételezésig eltelt vegetációs időt előtermesztési periódusnak neveztem. A mintavételezés akkor kezdődhetett, amikor a dohánylevelek mindhárom szárpozícióban kellő számban differenciálódtak (aljlevél, anyalevél, hegylevél). Az előtermesztést (69 nap) követően a mintavételek időpontjai napokban: 1., 9., 13., 21., 27., 36., 44., 50. nap. A vizsgálatokhoz a növény felső (hegylevelek), középső (anyalevelek) és alsó (aljlevelek) törési övezetéből vettem a mintákat, minden esetben az egészséges és ép leveleket. A mérések megkezdése előtt homogenizáltam az egyes mintákhoz tartozó dohányleveleket.

Szárítási periódus

A dohányszárítás egyik legősibb típusa az olcsó természetes szárítás, melynek két fő tényezője a pajta belső hőmérséklete, valamint a relatív nedvességtartalma. A munkám során vizsgált dohány típusok közül a Burley dohányt hazánkban is természetes szárítással szárítják, a magas szénhidráttartalmú Virginia típusú dohányt mesterségesen szárítják magas hőmérsékleten, beállított paraméterek mellett. Ez a módszer költséges, de hatékony. Mindkét dohánytípusra kombinált szárítási módszert dolgoztam ki, a dohányleveleket a természetes szárítástól eltérően zárt helyiségben, szellőzés nélkül, 80-90% relatív páratartalom mellett és 20-25 ^{o}C-on végeztem. Hetente (7., 14., 21., 28. napon) történt a több helyről nyert, majd homogenizált mintavétel.

Fermentációs periódus

A Virginia és Burley fajták egészséges, ép szárított anyaleveleit kiválogattam és kisméretű (saját kísérleteimen 20 literes), úgynevezett fermentációs boxba préseltem. Hetente vettem mintát. A fermentáció körülményei a következők voltak: külső 20-25 ^{o}C, 85-90% relatív páratartalom. Mikrobiológiai mérésekhez a fermentáció kezdetén (szárítás végén), a fermentáció közepén (10 hét), valamint a fermentáció végén vettem mintát (18 hét). A minták analízisét a fermentáció kezdetén (szárítás végén), a fermentáció közepén (10 hét), valamint a fermentáció végén végeztem el. A fermentációs kísérlet alatt nyomon követtem a hőmérséklet, a relatív páratartalom, valamint a pH értékek változásait is.

Biokémiai vizsgálatok

A termesztés, szárítás és fermentáció során saját termesztésű dohánynövényeimből készített kivonatokból irodalmi módszerekkel peroxidáz, polifenoloxidáz és lipoxigenáz aktivitást mértem, valamint meghatároztam a vízben oldható polifenol tartalmat, valamint a vízben oldható fehérje tartalmat.

2.2 Fermentáló üzem dohánymintái

A mérésekhez egy Burley és egy Virginia típusú dohány szárított anyaleveleit használtam fel, amelyeket a szolnoki termesztő körzetben neveltek a 2004-2005-2006 termesztési évben. A Burley dohány szárítása természetes úton, pajtában (3 hét), a Virginia dohány szárítása mesterségesen, szárító kamrában (5 nap) ellenőrzött körülmények között történt. Ezeken a mintákon is elvégeztem a fent említett biokémiai vizsgálatokat, valamint műszeres cukortartalom meghatározást is végeztem

2.3 Mikrobiológiai vizsgálatok

A mikrobiológiai vizsgálatok kiterjedtek mind a saját termesztésű dohányok fermentációs szakaszára, mind az üzemi kísérletekre. A mikrobiológiai vizsgálatokat az Élelmiszertudományi Kar Mikrobiológiai - és Biotechnológiai Tanszékén végeztem az alábbi mikroorganizmusokra:

- mezofil aerob mikroorganizmusok, közöttük spórás baktériumok, valamint penészgombák és élesztőgombák,
- mezofil anaerob mikroorganizmusok

A penészgombáknál fajszerinti meghatározást is végeztem.

3. EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

3.1 A saját termesztésű dohánynövények vizsgálata

A saját termesztésű dohánynövényekkel kapcsolatos vizsgálataim során célul tűztem ki a különböző pozíciójú dohánylevelek biokémiai és mikrobiológiai vizsgálatát a vegetáció, a szárítás és a fermentáció folyamán. Célkitűzéseim összetettségének megfelelően kutatómunkám is sokrétű volt.

3.1.1 A saját termesztésű dohánynövények biokémiai vizsgálata a vegetációs periódus során

Először a vegetációs periódus során vizsgáltam a peroxidáz, a polifenol-oxidáz és a lipoxigenáz enzimek aktivitását, illetve a dohányminőség kialakulásában fontos szerepet játszó vízben oldható polifenol tartalmat, valamint a dohánynövény esetleges élelmiszeripari felhasználása szempontjából döntő fontosságú vízben oldható fehérjetartalmat. Ez utóbbi tanulmányozását különösen fontosnak tartottam a dohánynövény esetleges élelmiszeripari felhasználása szempontjából. Ilyen jellegű vizsgálatokat korábban nem igen végeztek.

Peroxidáz

A peroxidáz aktivitás adatok alapján feltételezem, hogy a Virginia érzékenyebb a hőmérsékletváltozásra és a csapadékra (abiotikus sokkok), mint a Burley. A melegedésre viszont a Burley valamivel jobban reagált, mint a Virginia. A Burley fajták aktivitása általában alacsonyabb volt. Természetesen nem zárható ki az, hogy a peroxidáz aktivitási maximumok nem csak az időjárás viszontagságaira, hanem a levelek életkorára is jellemzőek lehetnek. De ez esetben a hegylevelek és az anyalevelek között is időeltoldást kellett volna tapasztalnom.

Polifenol-oxidáz

Kezdetben a különböző pozíciójú dohánylevelekben eltérő nagyságú, de viszonylag magas polifenol-oxidáz aktivitást mértem, amely idővel, a polifenolok nagy részének kialakulása, majd átalakulása után csökkent.

Lipoxigenáz

Eredetileg célul tűztem ki az különböző dohánytípusok, és azokon belül a különböző dohányfajták megkülönböztetése lehetőségeinek vizsgálatát a lipoxigenáz izoenzim összetételük alapján. A dohányt azonban olyan növénynek találtam, amely különböző típusai lipoxigenáz izoenzim eloszlásának vizsgálatai során nem találtam szignifikáns különbséget az egyes típusok között – ebből a szempontból a különböző Virginia, illetve Burley fajták, sőt a két típus különböző pozíciójú leveleiben sem volt különbség. Mivel a teljes vizsgálatok során a dohány lipoxigenáz izoenzim eloszlásokban számottevő különbséget nem találtam, le kellett vonnom azt a következtetést, hogy a dohány lipoxigenáz ilyen irányú vizsgálatokra nem alkalmas.

Vízben oldható polifenol tartalom

A különböző dohányfajták különböző pozíciójú leveleiben a termesztés vizsgálati időszakának első felében meglehetősen hektikusan változott, de minden esetben kirajzolódott egy maximum a vizsgálati időszak 13. és 21. napja között, ami a vízben oldható fenolok fokozott képződésével, majd melanin színanyaggá történő továbbalakulásával magyarázható. Ennek tulajdonítható, hogy a vizsgálati időszak első és utolsó napján gyakorlatilag azonos vízben oldható polifenol értékeket mértem. A hegylevelekben tapasztaltam a legmagasabb értékű vízben oldható polifenol tartalmat. A Virginia és a Burley esetében igen hasonló értékeket kaptam.

Vízben oldható fehérjetartalom

A vízben oldható polifenol tartalomhoz hasonlóan a vízben oldható fehérjetartalom is maximumgörbe szerint változott valamennyi vizsgált dohányminta esetében (hegylevelek és az anyalevelek esetében a vizsgálati időszak 27. napján, illetve az aljlevelekben elhúzódva a 9.-21. napján). A Virginia fajták valamivel magasabb vízben oldható fehérjetartalom maximumot

mutattak, különösen az aljlevelekben e vizsgálati időszak 13. és 21. napja között. A vegetációs időszak végére a legmagasabb fehérjetartalmat a hegylevelekben mértük, ez esetben is a Virginia fajták voltak valamivel jobbak. Ezek az eredmények azt sugallják, hogy a vízben oldható fehérjetartalom, így az esetleges élelmiszeripari felhasználás szempontjából egy rövidebb vegetációs periódus előnyösebb lehet, mint általam vizsgált, dohányipari szempontok szerint választott vegetációs periódus.

3.1.2 A saját termesztésű dohánynövények biokémiai vizsgálata a szárítási periódusban

Eredetileg a Virginia dohányfajták olcsóbb szárítási körülményeinek kidolgozását tűztem ki célul. Ennek érdekében először mind a Virginia, mind a Burley fajtákra a természetes és mesterséges szárítási körülmények kombinálásán alapuló, úgynevezett kombinált szárítási módszert dolgoztam ki. Azonban hamarosan kiderült, hogy az általam termesztett Virginia fajták magas cukortartalma az irodalmi várakozásokkal ellentétben nem bomlott le számottevően, ezért áttértem a természetes szárítási módszerre, amely mérési eredményei majdnem megegyeztek a kombinált szárítás után mért eredményekkel.

A peroxidáz aktivitás változásai arra engedtek következtetni, hogy a Virginia fajták stresszérzékenysége a szárítási periódusban is nagyobb, mint a Burley fajtáké. Mivel a kombinált szárítási folyamatok során a csökkenő polifenol-oxidáz aktivitás és a vízben oldható polifenol tartalom nagyságának változása között nem találtam korrelációt, feltételezem, hogy ebben a periódusban a fenolos vegyületek kialakulásában nem csak a polifenol-oxidáz, hanem direkt oxidációs folyamatok is részt vesznek. A Burley típusok szignifikánsan magasabb polifenol-oxidáz aktivitásának tulajdonítható, hogy a későbbi fermentációs periódusban a Burley dohány sokkal sötétebb színű lesz, mint a Virginia. A dohánylevelek vízben oldható fehérjetartalmának a szárítás során tapasztalható némileg növekedő tendenciája azt sugallja, hogy nem csak a vegetációs periódus végén, hanem a kombinált szárítás után is alkalmas lehet a dohánylevél a fehérjetartalom kivonására, illetve a maradék felhasználására a fermentációs periódusban.

3.1.3 A saját termesztésű dohánynövények biokémiai vizsgálata a fermentációs periódusban

Az alkalmazott. többféle szárítási módszer után végzett fermentációs periódusban a vizsgálati eredmények gyakorlatilag nem különböztek egymástól. A Burley fajtákban mért, a kezdeti időszakban szignifikánsan magasabb polifenol-oxidáz aktivitás, illetve bennük az alacsonyabb

vízben oldható polifenol tartalom azt jelzi, hogy a fermentációs periódusban a Burley fajtákban a fenolok nagyobb arányban oxidálódnak melanin színanyaggá.

3.2 Az üzemi termesztésű dohány anyalevelek vizsgálata az üzemi gépi fermentálás során

A ipari szempontból legfontosabb dohány anyalevelek dohányipari úgynevezett elsődleges feldolgozás (szárítás és fermentáció) sok szempontból különbözik azoktól a módszerektől, amelyeket a saját termesztésű dohánynövényeim kezelése során már ismertettem. A Burley anyalevelek természetes szárítása legfeljebb méreteiben különbözött az általam leírt természetes szárítástól, de a Virginia anyalevelek szárítása mesterséges úton, több lépésben történt.

3.2.1 Az üzemi termesztésű dohány anyalevelek biokémiai vizsgálata az üzemi gépi fermentálás során

A vizsgálatok alapján feltételezem, hogy a növényi stresszre érzékenyen reagáló peroxidáz aktivitás a kondicionáló előkezelés során elszenvedett hőhatás miatt emelkedhetett meg, az intenzív redrying kezelés már az enzimaktivitás csökkenésével járt. A Virginia ebben az esetben is érzékenyebben reagált, mint a Burley. A polifenol-oxidáz aktivitás változása nem sokban különbözött a természetes szárítás és a hagyományos fermentációnál tapasztaltaktól. A vízben oldható polifenol tartalom ez esetben is valamivel alacsonyabb volt a Burley dohányban, mint a Virginiában, a vízben oldható fehérjetartalmak esetében is a Virginiában mért értékek voltak valamivel magasabbak.

3.2.2 Az üzemi termesztésű dohány anyalevelek kémiai analízise az üzemi gépi fermentálás során

A dohányüzemben történő vizsgálatok során az alábbi értékeket mértük: összes nitrogén-, fehérje nitrogén-, összes cukor-, redukáló cukor-, alkaloid-, nitrát- és klorid-tartalom. Ezek közül csak a cukortartalmakkal foglalkoztam részletesebben, mert ezek szoros kapcsolatban állnak az üzemi gépi fermentálási vizsgálataim eredményével. Az adatokból egyértelműen kiderült, hogy a Burley dohányok összes cukortartalma nagymértékben elmaradt a Virginia dohányokhoz képest. Ennek megfelelően alakultak a redukáló cukortartalom értékek is.

3.3 A különböző módon termesztett dohánylevelek mikrobiológiai vizsgálata

A fermentáció során három alkalommal végeztem mikrobiológiai vizsgálatokat: a fermentáció kezdetekor (0. hét), a 10. hét végén, valamint a fermentáció befejezésekor (18. hét). A vizsgálataimat az alábbi mikroorganizmusokra terjesztettem ki:

- mezofil aerob mikroorganizmusok, közöttük spórás baktériumok, valamint penészgombák és élesztőgombák,
- mezofil anaerob mikroorganizmusok.

A penészgombáknál fajszerinti meghatározást is végeztem.

3.3.1 A saját termesztésű dohánynövények mikrobiológiai vizsgálata

A mikrobiológiai vizsgálatok során meglepőnek találtam, hogy a jelentősen magasabb cukortartalommal rendelkező Virginia leveleken az alkalmazott vizsgálati módszerrel nem találtam penészgombákat, ezzel szemben az alacsony cukortartalmú Burley leveleken igen. Az aerob spórás baktériumok mennyiségi vizsgálata alapján megállapítottam, hogy a Virginia fajtánál növekedés mértéke sokkal jelentősebb volt, mint a Burley esetben. Ennek alapján úgy tűnik, hogy a Virginia mesterséges szárítása mikrobiológiai szempontból előnyösebb, mint a természetes szárítás, mert az alkalmazott magas hőmérséklet miatt a fermentációba kerülő dohány fertőzöttsége jóval kisebb, mint a természetes szárítás esetében – ez előzheti meg a fermentáció során a magas cukortartalom miatti igen magas fertőzöttséget. Ez némileg ellent mondott annak a várakozásomnak, hogy a baktériumok a fehérjékben gazdagabb Burley fajtán fognak jobban elszaporodni. Ezek szerint az aerob spórás baktériumok számára a szénhidrát jobb táptalajnak bizonyult.

3.3.2 Az üzemi termesztésű dohány anyalevelek mikrobiológiai vizsgálata

Az üzemi termesztésű dohány anyalevelek üzemi gépi fermentálás alatti mikrobiológiai vizsgálata során is nem csak mennyiségi vizsgálatokat (mikrobaszám) végeztem, hanem a különböző mikrobák azonosítására is törekedtem. Összességében elmondhatom, hogy a mesterséges szárítású Virginia dohánylevelek a szárítás erélyes körülményei miatt az úgynevezett redrying kezelés előtt a Burley típusnál alacsonyabb aerob mikroorganizmus számmal kerültek be az üzembe. Ennek azért van nagy jelentősége, mert ez az oka annak, hogy a mikroorganizmusok számára igen kedvező magas cukortartalom ellenére sem emelkedett a fermentáció végére 1000000 tke/g fölé a vizsgált mikroba csoportok mennyisége.

A Burley dohánylevelek a természetes szárítási körülmények miatt magasabb mikróba számmal kerültek be az üzembe. A Burley minták esetében a redrying kezelés volt az, ami lecsökkentette az élesztőgombák számát, és tette tönkre a penészgombákat. A spórás baktériumok száma mindhárom évből származó mintában a redrying kezelés hatására egy nagyságrend értékben lecsökkent.

Mindkét dohánytípus minőségi mikrobiológiai vizsgálatának eredményei alapján elmondhatjuk, hogy az azonosított penészgombafajok között voltak toxintermelők, azonban a fermentáció paraméterei nem kedveztek a toxintermelésnek. A heves fermentáció során a bálában mért hőmérséklet 30-35 °C volt, a vízaktivitás értékek 0,7 alattiak voltak. Bár munkám során nem tértem ki a toxin termelés lehetőségének vizsgálatára, az általam izolált fajok az irodalmi adatok szerint 0,7 vízaktivitás érték alatt nem képesek toxint termelni, így nem történhet toxinképződés a fermentáció során. Eddigi mérési eredményeink azt mutatják, hogy mind a Virginia és mind a Burley dohány, kedvező táptalaj lehet a mikroorganizmusok számára, ezért különösen fontos a fermentáció kezdeti nedvességtartalmának szigorú ellenőrzése és folyamatos nyomon követése a későbbi feldolgozási fázisokban is.

A Burley és Virginia típusok a spórás anaerob baktériumokra vonatkozóan hasonló tendencia mutatkozott, mint az aerob mikroorganizmusok esetében. De ebben az esetben a Virginia fertőzöttsége már kezdettől fogva nagyobb volt.

4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK (TÉZISEK)

PhD értekezésem új tudományos eredményeit az alábbiakban foglalom össze.

1. A dohányiparban az elmúlt években új fajtákként köztermesztésbe vont Virginia és Burley dohányfajták saját termesztése során elsőként követtem nyomon biokémiai módszerekkel a peroxidáz, a polifenol-oxidáz és a lipoxigenáz enzimek aktivitását, illetve a dohányminőség kialakulásában fontos szerepet játszó vízben oldható polifenol tartalmat, és ezek alakulásából következtetéseket vontam le.
2. Statisztikai módszerek segítségével megállapítottam, hogy a peroxidáz és polifenol-oxidáz aktivitás értékeket, a vízben oldható polifenol tartalmat, valamint a vízben oldható fehérjetartalmat a leveleknek a száron való elhelyezkedése (kora) erősen meghatározza, mind a vegetációs időszakban, mind a szárítási periódusban. A különböző dohánytípusokban, illetve dohányfajtákban a lipoxigenáz izoenzim eloszlásaiban viszont nincs számottevő különbség, ezért a dohánynövényben ez az enzim ilyen irányú vizsgálatokra nem alkalmas.
3. Úgy találtam, hogy a vízben oldható fehérjetartalom, így az esetleges élelmiszeripari felhasználás szempontjából egy rövidebb vegetációs periódus (13-14 hét) előnyösebb lehet,

mint az általam vizsgált, dohányipari szempontok szerint választott vegetációs periódus (16-17 hét).

4. Mind a kombinált, mind a természetes szárítási módszer után a vizsgált dohánylevelek vízben oldható fehérjetartalmának mért növekedő tendenciája alapján sikerült némi támpontot nyújtanom egy esetleges, olyan további kutatáshoz, amely az igen gazdaságosan termeszthető dohánynövénynek a legfontosabb felhasználási területén, a dohányiparon kívül, illetve azzal párhuzamosan való hasznosításával foglalkozik.
5. A magas cukortartalmú Virginia dohánytípus esetében a költséges mesterséges szárítási módszer kiváltására kombinált szárítási módszert dolgoztam ki, amelynek során megállapítottam, hogy a Virginia dohánylevelek cukortartalma nem csökken sem a kombinált, sem a természetes szárítási körülmények között.
6. A mikrobiológiai vizsgálatok során megállapítottam, hogy a Virginia mesterséges szárítása mikrobiológiai szempontból előnyösebb, mint a természetes szárítás, mert az alkalmazott magas hőmérséklet miatt a fermentációba kerülő dohány fertőzöttsége jóval kisebb, mint a természetes szárítás esetében – ez előzheti meg a fermentáció során a magas cukortartalom miatti igen magas fertőzöttséget.
7. Az üzemi termesztésű dohány anyalevelek üzemi gépi fermentálás előtti és alatti részletes kémiai, biokémiai és mikrobiológiai vizsgálatával támpontokat nyújtottam az üzemi fermentálás paramétereinek (elsősorban a redrying kezelés hőmérsékletének) pontosabb beállításához. Mivel mind a Virginia és mind a Burley dohány, kedvező táptalaj lehet a mikroorganizmusok számára, ezért különösen fontos a fermentáció kezdeti nedvességtartalmának szigorú ellenőrzése és folyamatos nyomon követése a későbbi feldolgozási fázisokban is.

5. JAVASLATOK

1. Kutatásom során annak a lehetőségeit is kerestem, hogyan hasznosítható az igen gazdaságosan termeszthető dohánynövény a legfontosabb felhasználási területén, a dohányiparon kívül, illetve azzal párhuzamosan. A vegetációs periódusban a vízben oldható fehérjetartalom végig követésével talán sikerült némi támpontot nyújtanom egy esetleges, további kutatáshoz.

2. A kombinált szárítás módszerét tovább vizsgálatra alkalmasnak tartom a különböző dohánytípusok szempontjából.
3. Meggyőződésem az, hogy az üzemi termesztésű Burley és Virginia dohány anyalevelek üzemi gépi fermentációja során nyert vizsgálati eredményeim jelentősen hozzájárulhatnak az üzemi fermentáció paramétereinek pontosabb beállításához.

6. KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

Tudományos közlemény nemzetközi folyóiratban angol nyelven

1. Szedljak, I., Szántainé Kőhegyi, K., Kosáry, J. (2007): Preliminary biochemical studies on a model growing of different tobacco plant (*Nicotiana tabacum* L.) cultivars. J. Int. Horticult. Sci. **13**, 83-87. (if 0). ISSN 1585-0404.
2. Szedljak I., Szántainé Kőhegyi K., Kosáry J. (2010): Biochemical studies on curing and fermentation processing periods of different tobacco plant (*Nicotiana tabacum L.*) cultivars. Betrage zur Tabakforschung International/Contributions to Tobacco Res. 24, 24-28. (if 0). ISSN 1612-9237.
3. Szedljak, I., Szántainé Kőhegyi, K., Kosáry, J. (2010): Study of tobacco plant as a possible nutritive protein source. Acta Alimentaria **39**, 138-145. (if 0. 0.510). DOI: 10.1556/AAlim.39.2010.2.6.

Tudományos közlemény hazai folyóiratban magyar nyelven

1. Szedljak I., Tar Zs., Kosáry J.(2007): A lipoxigenázok izoenzim összetételének változásai a növényekben. 8. Különböző dohánytípusok zöld hegyleveleinek (*Nicotiana tabacum* L.) vizsgálata betakarításkor biokémiai módszerekkel. Olaj, szappan, kozmetika **56**, 72-75 (2007). (if 0). HU ISSN-0472-8602.

Tudományos közlemény nemzetközi konferencia kiadványban angol nyelven

1. Szedljak, I., Román Juhászné, M., Szántainé Kőhegyi, K., Ábel, B. (2004): Microbiological Feature of Air-cured and Flue-cured Tobaccos Before and During Fermentation. 2 nd Central European Congress on Food, Budapest. In CEFood Congress, CD-ROM, Diamond Congress Ltd.
2. Szedljak, I., Román Juhászné, M., Szántainé Kőhegyi, K., Ábel, B. (2004): Microbiological Feature and Comparison of Different Types of Tobaccos During Fermentation. 6th International Conference on Food Science Proceedings, CD-ROM Szeged. SZTE-SZÉF ISBN 963-482-677-6.

Tudományos közlemény hazai konferencia kiadványban magyar nyelven

1. Szedljak I., Juhászné Román M., Szántainé Kőhegyi K. (2005): Virginia típusú dohány mikrobiológiai jellemzőinek összehasonlítása a fermentáció során. Tavaszi Szél Konferencia kiadvány, Debrecen, előadás 364-367; ISBN 963-218-368-1.
2. Szántainé Kőhegyi K., Szedljak I., Dalmadi I. (2006): Dohányok fizikai és kémiai jellemzőinek változása fermentálás alatt. SZÉF, VII. Nemzetközi Élelmiszertudományi Konferencia. Szeged, 7th International Conference on Food Science, Proceedings (CD-ROM) 38. section, 1-8. SZTE SZÉF ISBN 963-482-577-X.

Egyoldalas kivonat nemzetközi konferenciakötetben angol nyelven

1. Szedljak I., Juhászné Román M., Szántainé Kőhegyi K., Tar, Zs., Nagy, T. (2005): Microbiological Features and Comparison of Different Types of Tobaccos During Fermentation. 1st Central European Forum for Microbiology (CEFORM). Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica, Volume 52, Keszthely. ISSN 1217-8950; 154-155.

Egyoldalas kivonat hazai konferenciakötetben magyar nyelven

2. Szedljak I., Juhászné R. M., Szántainé Kőhegyi K. (2004): Dohányok mikrobiológiai jellemzőinek vizsgálata fermentálás és tárolás során. A Magyar Mikrobiológiai Társaság Évi Nagygyűlése és a X. Fermentációs Kollokvium előadás kivonatok, Keszthely, 116.
3. Szedljak I., Firtha F., Kosáry J., Szántainé Kőhegyi K. (2005): Különböző típusú dohány fajták kémiai- biokémiai- és színjellemzőinek összehasonlítása a fermentáció során. Comparison of Chemical, Biochemical and Colour Characteristics of Different Tobaccos During Fermentation, Lippay -Ormos-Vas Tudományos Ülésszak Budapest, 106-107, ISBN 963-503-342-7.
4. Szedljak I., Kosáry J., Szántainé Kőhegyi K., Tar Zs. (2005): Különböző típusú dohány fajták enzim aktivitásának összehasonlítása a fermentáció során. Comparison of Enzyme Activity of Different Tobacco Types During Fermentation, Lippay -Ormos -Vas Tudományos Ülésszak Budapest, 108-109. ISBN 963-503-342-7.
5. Szedljak I., Kosáry J., Szántainé Kőhegyi K., Tar Zs. (2005): Különböző típusú dohány fajták enzim aktivitásának összehasonlítása a fermentáció során. Comparison of Enzyme Activity of Different Tobacco Types During Fermentation, Lippay -Ormos -Vas Tudományos Ülésszak Budapest, 108-109. ISBN 963-503-342-7.

6. Szedljak I., Szántainé Kőhegyi K., Somogyi L., Szabó T. (2005): Különböző dohány fajták kémiai jellemzőinek változása a fermentáció során. Changes in Chemical Characteristics of Different Tobacco Types During Fermentation, Lippay -Ormos -Vas Tudományos Ülésszak Budapest,110-111. ISBN 963-503-3427.
7. Szedljak I., Juhászné Román M., Szántainé Kőhegyi K., Nagy T. (2005): Virginia és Burley dohányok fermentációs modell kísérletei. Fermentation of Virginia and Burley Tobaccos in Model Experiments, Lippay -Ormos –Vas Tudományos Ülésszak Budapest, 172-173. ISBN 963-503-342-7.
8. Szedljak I., Juhászné Román M., Szántainé Kőhegyi K.,Tar Zs. (2005): Különböző termesztési évből származó Burley dohányminták mikrobiológiai jellemzői a fermentáció során. Microbiological Features of Burley Tobacco Grown in Different Years, Lippay -Ormos -Vas Tudományos Ülésszak Budapest, 174-175. ISBN 963-503-342-7
9. Firtha F., Szedljak I., Szántainé Kőhegyi K. (2005): Színjellemzők mérése különböző típusú dohány fajták fermentációja során. Measurement of Colour Features on Different Types of Tobaccos During Fermentation, Lippay –Ormos -Vas Tudományos Ülésszak Budapest,254-255. ISBN 963-503-342-7.
10. Szántainé Kőhegyi K., Dalmadi I., Szedljak I. (2005): Dohányok illatanyagainak változása fermentálás alatt. Changes of Olfactory Properties in Different Tobaccos During Fermentation, Lippay -Ormos -Vas Tudományos Ülésszak Budapest, 104-105. ISBN 963-503-342-7.
11. Szántainé Kőhegyi K., Szedljak I., Dalmadi I. (2006): Dohányok fizikai és kémiai jellemzőinek változása fermentálás alatt, SZÉF, VII. Nemzetközi Élelmiszertudományi Konferencia, Szeged, Summaries of Lectures and Posters, 145-146. SZTE SZÉF ISBN 963-482-676-8.
12. Szedljak I., Juhászné Román M., Szántainé Kőhegyi K. (2006): Aerob és anaerob mikroorganizmusok szerepe a dohány fermentálásában, DOSZ Tavaszi Szél Konferencia, Kaposvár, Konferenciakiadvány, Orvostudományi és Biológiai Szekció, 110, ISBN 963-229-773-3.
13. Szedljak I., Juhászné Román M., Szántainé Kőhegyi K. (2007): Különböző dohányfajták fermentációjának összehasonlító vizsgálata. Tavaszi Szél Konferencia Budapest, Tavaszi Szél Konferencia Kiadvány, 301. ISBN 978-963-87569-1-6.

14. Szántainé Kőhegyi K., Dalmadi I., Szedljak I. (2007): Különböző minőségi osztályba sorolt Virginia dohányok vizsgálata elektronikus orral. Measurement of virginia tobaccos classified into various quality classes by electronic nose, Lippay -Ormos -Vas Tudományos Ülésszak, Budapest, 154-155. ISBN 978-963-06-3350-5.
15. Szedljak I., Szántainé Kőhegyi K., Juhászné Román M. (2007): Különböző évjáratú dohányok mikrobiológiai állapotának felmérése. Measuring of microbiota status of tobaccos grown in different cultivation year, Lippay -Ormos -Vas Tudományos Ülésszak, Budapest, 86-87. ISBN 978-963-06-3350-5.
16. Szedljak I., Kosáry J. (2007): A dohány *(Nicotiana tabacum L.),* mint lehetséges táplálkozási fehérjeforrás vizsgálata. Study of tobacco plant *(Nicotiana tabacum L.)* as a possible nutritive protein source, Lippay - Ormos - Vas Tudományos Ülésszak, Budapest, 84-85. ISBN:978-963-06-3350-5.