



Élelmiszertudományi Kar

JELÖLÉSMENTES IMMUNSENZOROK FEJLESZTÉSE PROBIOTIKUS BAKTÉRIUMOK ÉS AFLATOXIN M₁ KIMUTATÁSÁRA

Szalontai Helga

Doktori Értekezés Tézisei

Témavezető:

Adányiné Dr. Kisbocksói Nóra

Készült:

Budapesti Corvinus Egyetem
Élelmiszertudományi Kar

2015

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

tudományága: Élelmiszertudományok

vezetője: **Dr. Felföldi József**

Egyetemi tanár, PhD

Budapesti Corvinus Egyetem,
Élelmiszertudományi Kar,
Fizika-Automatika Tanszék

Témavezető: **Adányiné Dr. Kisbocskói Nóra**

Tudományos tanácsadó, DSc

Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ,
Élelmiszer-tudományi Kutatóintézet
(NAIK-ÉKI),
Élelmiszer-analitikai Osztály

A doktori iskola- és a témavezető jóváhagyó aláírása:

A jelölt a Budapesti Corvinus Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, a műhelyvita során elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, ezért az értekezés védési eljárásra bocsátható.

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

1. BEVEZETÉS

Napjainkban az élelmiszerek - mind a szennyező, élelmiszerbiztonságot veszélyeztető vegyületek, mikrobák, mind az élelmiszerminőséget meghatározó összetevők – vizsgálatában a hagyományos és a modern analitikai, illetve a molekuláris biológiai módszerek mellett egyre nagyobb szerepet töltenek be a bioszenzoros alkalmazások.

A bioszenzorok előtérbe kerülése, dinamikus fejlődése az élelmiszeranalitika területén számos tényezőnek köszönhető. A kimutatások érzékenysége gyakran felveszi a versenyt olyan nagyműszeres technikákkal, mint pl. a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC), a gázkromatográfia (GC), sokszor egyszerűbb a mintaelőkészítési eljárás, e mellett kialakításuk, üzemeltetésük jellemzően kisebb költséggel megvalósítható. A bioszenzorok felépítését tekintve számos kombináció létezik a bio- vagy biomimetikus receptorok óriási változatosságából (antitest, antigén, oligonukleotid, szövet, teljes sejt, molekuláris lenyomatú polimerek stb.), a detektálási típusok (optikai, elektrokémiai, tömeg stb.) széles skálájából, a kialakított részegységek dimeziójából (pl. mikro-, nano nagyságrend) adódóan. A bioaffinitás szenzorok közül kiemelkedő az antitest-alapú, immunszenzoros alkalmazások szerepe. Hasonlóan más immunanalitikai módszerekhez, mint az enzim immunvizsgálat (EIA) vagy az enzimkapcsolt immunszorbens analízis (ELISA), a kimutatni kívánt anyagra, mikrobára stb. specifikus antitestek szelektivitását, és a nagyfokú érzékenységet, az antitest antigénnel szemben mutatott nagy affinitását használják ki a bioszenzorok fejlesztői is. Az immunszenzorok külön ágát képviselik az enzimes, vagy egyéb jelölést nem igénylő, ún. jelölésmentes (label-free) detektálásra alkalmas szenzortechnikákkal megvalósított kimutatások. Előnyként az alapvetően rövidebb analízis időt, a valós-idejű meghatározásokat, számos minta sorozatmérésének lehetőségét, a költséghatékony működtetést emelném ki.

Mindezen előnyöket szem előtt tartva az egeri Eszterházy Károly Főiskolán 2006-ban alakult Egerfood Regionális Tudásközpont bioszenzor-fejlesztő

laboratóriumában kezdtünk el egyéb szenzorok mellett kvarckristály mikromérleg (QCM) és optikai hullámvezető fénymódus spektroszkópia (OWLS) alapú, jelölést nem igénylő szenzortechnikákkal dolgozni. Kiemelt jelentőséggel bírt a tejek, tejalapú fermentált készítmények egyes bioaktív komponenseinek és szennyezőinek bioszenzorokkal történő kimutatása és mennyiségi meghatározása, mégpedig elsősorban a monitorozó, de kellően érzékeny vizsgálatok kivitelezése (NTP-FUNKMILK OMFB-00386/2008 pályázat). A tejben, tejtermékekben előforduló szennyező, vagy patogén baktériumok élelmiszer-biztonsági jelentősége okán számos bioszenzoros vonatkozású tudományos publikáció látott napvilágot. Annak ellenére, hogy az előnyös élettani hatású, probiotikus baktériumok az elmúlt évtizedben a mikrobiológiai, molekuláris biológiai kutatások középpontjába kerültek - elsősorban az egyes törzsek azonosítása, rokonsági kapcsolataik és pontos, az emésztőrendszerben lezajló hatásmechanizmusuk feltárása miatt - bioszenzorrall való tanulmányozásuk eddig nem volt jelentős terület. A fogyasztók védelme az élelmiszerek biztonságának szavatolásán túl azonban kiterjed a termékeken jelzett minőségi jellemzők, paraméterek ellenőrzésére is, ezért feladatomban a tejiparban leggyakrabban használt probiotikus baktériumok (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*) mennyiségi meghatározására alkalmas, antitest-alapú szenzorok (QCM és OWLS) fejlesztése volt.

A tejet szennyező vegyületek, mint pl. az állatgyógyászati szermaradványok, növényvédő szerek mellett a biológiai eredetű, mikotoxinogén penészgombák által termelt aflatoxinok a legnagyobb egészségügyi kockázatot jelentő kontaminánsok közé tartoznak a tejben. Munkám céljával az aflatoxin B₁ metabolizmusával a szervezetben M₁ formává átalakuló, és a tejbe kiválasztódó aflatoxin M₁ bioszenzoros kimutatásának megvalósítását jelöltem ki OWLS-alapú bioszenzorrall, az élelmiszerbiztonság témakörében született pályázatunkhoz (TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0008) kapcsolódva.

2. CÉLKITŰZÉS

QCM és OWLS-alapú immunszenzorok fejlesztését tűztem ki célul probiotikus baktériumok (*L. acidophilus* és *B. bifidum*), valamint OWLS-alapú immunszenzor kialakítását aflatoxin M₁ mennyiségi meghatározására az alábbiak szerint:

1. A QCM immunszenzor fejlesztésének megalapozására modell méréseket (BSA - anti-BSA molekulapár) terveztem, melynek célja a piezoelektromos szenzor áramló oldatos, direkt immunanalitikai módszerrel történő alkalmazhatóságának tanulmányozása volt, ezen belül antitest immobilizálási és mérési eljárások összehasonlítását, a működési paraméterek immunszenzor érzékenységére gyakorolt hatásának vizsgálatát terveztem.

2. A QCM és OWLS-alapú immunszenzorok fejlesztése során célom volt a mérési paraméterek optimalizálását követően a szenzorok kalibrálása pufferes baktérium szuszpenziókkal és a baktériumokkal mesterségesen szennyezett tejmintákkal, majd a fejlesztett bioszenzorokkal ismeretlen sejtszámú fermentált tejminták *L. acidophilus* és *B. bifidum* sejtszámának meghatározása, továbbá szelektivitási vizsgálatok kivitelezése.

3. Az OWLS-alapú aflatoxin M₁ bioszenzor fejlesztése során célul tűztem ki a működési paraméterek – mérési hőmérséklet, aflatoxin M₁ antitest, és a szenzorfelületen rögzítendő AFM₁-HRP konjugátum optimális koncentrációja – meghatározását, különböző mintaelőkészítési módszerek szenzor érzékenységére és a visszanyerési hatékonyságra kifejtett hatásának vizsgálatát. Végül célom volt a fejlesztett indirekt immunszenzorral az AFM₁ mennyiségét tejmintákban meghatározni.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1 QCM és OWLS immunszenzorok fejlesztése probiotikus baktériumok kimutatására

A probiotikus baktériumok kimutatására irányuló szenzorfejlesztések első lépéseként *L. acidophilus* és a *B. bifidum* sejtfal antigénekre nyúl immunizálással állítottunk elő poliklonális antitesteket, majd a tisztított antiszérumok szelektivitását indirekt ELISA-val vizsgáltam (NAIK-ÉKI).

A QCM (model 430A, CH Instruments, TX, USA) és OWLS (model 120, Mikrovákuum Kft., Budapest) mérőrendszereket áramló oldatos analízishez állítottam össze, a folyadékáramlást perisztaltikus pumpával (Minipuls 3, Gilson, Franciaország), ill. fecskendőpumpával (Syringe Ne-1000, NY, USA) biztosítottam, a minta injektálást Rheodyne injektorral (model 7725, CA, USA), 500 vagy 200 μ l mintahurok alkalmazásával végeztem.

A baktériumok immunszenzoros meghatározását direkt mérési módszerrel végeztem, azaz a megfelelő eljárással a QCM ill. az OWLS szenzor chip felszínére rögzített antitestekkel közvetlenül mértem a vizsgált mintából a baktérium sejteket. A QCM vizsgálatok során a kvarckristály arany vékonyrétegén szulfo-LC-SPDP, ill. MHDA keresztkötő reagensek segítségével, az OWLS hullámvezető *chip* felületén glutaraldehyd alkalmazásával kovalensen immobilizáltam az antitesteket. A szenzorfelszín regenerálását, azaz az immunkomplexek disszociálását 1,2 mol/l NaOH (QCM), és 10 mmol/l HCl oldattal (OWLS) végeztem. A QCM immunszenzorok fejlesztésekor két folyadékáramlásos rendszert (áramló injektálásos analízis, megállított mintaáramlás) alkalmaztam és hasonlítottam össze, mindkét esetben injektálással juttattam a mintákat a szenzorok felületére, az OWLS-sel áramó injektálásos analízist végeztem.

A bioszenzoros mérésekhez 3 féle, baktérium sejteket tartalmazó mintát készítettem: (1.) baktérium sejtek (*L. acidophilus* vagy *B. bifidum*) pufferben szuszpendálva a bioszenzorok működési paramétereinek meghatározásához, (2.)

tejminták: baktérium sejtek (*L. acidophilus* vagy *B. bifidum*) tejben szuszpendálva, 10× vagy 100× hígítva, (3.) fermentált tejminták: *B. bifidum* baktériummal készített bifidus, ill. *L. acidophilus* baktériumokat tartalmazó acidophilus tejminták 10× vagy 100× hígításban.

A *L. acidophilus* és *B. bifidum* baktériumok kimutatására fejlesztett bioszenzorok kialakításakor referencia mérésként mikrobiológiai tenyésztéses módszert alkalmaztunk. A fermentált tejminták *L. acidophilus* és *B. bifidum* csíraszámát szélesztéses módszerrel, MRS és BSM táptalajokon határoztuk meg.

3.2 OWLS immunszenzorok fejlesztése aflatoxin M₁ kimutatására

Az AFM₁ meghatározására alkalmas szenzorfejlesztés során indirekt mérési módszert alkalmaztam, amely a kisebb molekulatömegű vegyületek mennyiségi meghatározását is lehetővé teszi. A szenzorfelületen fehérjével (HRP) konjugált antigént (AFM₁) rögzítettem, és ezzel az antigénnel mértem vissza a mintához az antigén mennyiségéhez képest kis feleslegben hozzáadott, szabadon maradt antitesteket. Az OWLS hullámvezető szenzor felületén glutaraldehid alkalmazásával kovalensen rögzítettem az AFM₁-HRP konjugátumot. A szenzorfelület regenerálását, azaz az immunkomplexek disszociálását 10 mmol/l HCl oldattal végeztem.

A mintákat standard addícióval készítettem el, és 3 féle mintaelőkészítési módszert hasonlítottam össze. A tejhez különböző koncentrációban hozzáadtam az AFM₁ standardokat, majd a mintákat (1.) redős szűrőn szűrtem, (2.) centrifugáltam (3500 g, 10 min, 10°C) vagy (3.) méretkizárásos centrifugálást (3K Pall macrosep szűrő, 4500 g, 30 min, 10°C) alkalmaztam. Végül a kívánt mértékben hígítottam a mintákat (42 mmol/l Tris, pH 7,4). A meghatározott koncentrációjú AFM₁ antisérum oldatot közvetlenül a szenzorra injektálás előtt elegyítettem az AFM₁ standard oldatokkal, ill. a tejmintákkal 1:1 arányban, és 3 perces inkubáció (24°C) elteltével bioszenzorra vittem a mintákat. A minták bioszenzoros méréseinek ellenőrzésére referencia módszerként kompetitív ELISA tesztet végeztem.

4. EREDMÉNYEK

Kutatómunkám során antitest-alapú jelölésmentes QCM és OWLS-alapú immunszenzorokat fejlesztettem probiotikus baktériumok (*L. acidophilus* és *B. bifidum*) és OWLS szenzort aflatoxin M₁ kimutatására.

Modellméréseket végeztem a QCM mérőrendszer direkt, antitest alapú kimutatásban való alkalmazhatóságának vizsgálatára. A BSA-antiBSA molekulapárral megvalósított kísérletek során megállapítottam, hogy a szulfo-LC-SPDP keresztkötő reagenssel kialakított önszerveződő monomolekuláris réteg (SAM) hatékonyabb az antitest rögzítésben, mint az MHDA-val történő antitest immobilizálás. QCM immunszenzor esetében az optimális áramlási sebesség 0,1 ml/min, a mintamennyiség 500 µl. Tanulmányoztam a kvarckristály szenzorok többszöri használatának lehetőségét és megállapítottam, hogy az általam alkalmazott szenzor előkészítési eljárással 4 alkalommal készíthető elő ugyanaz a szenzor jelentős érzékenységsökkenés nélkül.

A probiotikus baktériumok kimutatásához nyúl immunizálással állítottuk elő a specifikus poliklonális antitesteket, és kompetitív ELISA teszttel vizsgáltuk azok szelektivitását, keresztreakcióit. A QCM és OWLS szenzorok fejlesztése során meghatároztam a kvarckristály és a hullámvezető chip felszínén rögzítésre kerülő antitest koncentrációját (50 µg/ml, ill. 10 µg/ml), és további mérési paramétereket (áramlási sebesség, mérési hőmérséklet). A bioszenzorokkal elvégzett szelektivitási vizsgálatok megerősítették az ELISA teszt eredményeit, miszerint a poliklonális antitestek mutatnak keresztreakciót a nem specifikus baktériumokkal, QCM esetében 10⁵ CFU/ml, OWLS szenzorral 10⁴ CFU/ml sejt koncentrációtól. További, OWLS szenzorral kivitelezett kísérleteim azt mutatják, hogy a hóvel előlt specifikus sejteket szignifikánsan érzékenyebben mutatja ki a szenzor, mint a kezeletlen sejteket. A baktériumok dinamikus méréstartománya pufferes szuszpenzióban QCM szenzorral 10⁴-10⁷ CFU/ml, OWLS szenzorral *L. acidophilus* esetében 10³-10⁷ CFU/ml, *B. bifidum* baktériumra 10³-10⁶ CFU/ml. Az optimalizált paraméterek

alkalmazásával tejmintákra kalibrált szenzorokkal fermentált tejmintákban határoztam meg a *L. acidophilus* és a *B. bifidum* sejtszámot és az eredményeket telepszámlálással kapott sejtszámokkal hasonlítottam össze. A mérési módszer QCM szenzor érzékenységére kifejtett hatását tanulmányozva megállapítottam, hogy áramló injektációs módszerrel mindkét baktériumot vizsgálva szélesebb a dinamikus méréstartomány (10^3 - 5×10^5 CFU/ml) $100 \times$ hígítású tejmintákban, mint a 10 perces inkubációval kivitelezett megállított mintaáram alkalmazásával (10^3 - 10^5 CFU/ml). OWLS szenzorral a QCM eredményekkel megegyezően 10^3 - 5×10^5 CFU/ml a baktériumok dinamikus méréstartománya tejmintákban. Az ismeretlen sejtszámú minták vizsgálatakor bioszenzorokkal kapott sejtszám értékek jó egyezést (R^2 0,87-0,98) mutattak a telepszámlálással kapott sejtszámokkal. A szakirodalomban számos példát találunk élelmiszerek mikrobiológia vizsgálatának megkönnyítésére fejlesztett bioszenzorokra, mivel azonban kizárólag szennyező, ill. patogén baktériumokról van szó, túl magas a kimutatási határ (többnyire 10^3 felett, de akár 10^7 CFU/g is lehet). Ilyen magas patogénszám nem megengedhető, ha pedig dúsításra van szükség a vizsgálathoz, elvész a módszer gyorsasága. Probiotikus baktériumok esetében azonban éppen a magas csíraszám az elvárt egy termékben, tehát a mintát meghígítva közvetlen méréssel gyorsan kapunk közelítő eredményt a baktérium sejtszámra.

Az aflatoxin M_1 mennyiségi analizisére alkalmas OWLS-alapú szenzorfejlesztés során indirekt kimutatási módszert alkalmaztam, amellyel kisebb molekulatömegű vegyületek alacsony koncentrációjának meghatározása is kivitelezhető. A szenzorfelszínen fehérjével (HRP) konjugált aflatoxin M_1 molekulát (antigén) rögzítettem glutáraldehid (2,5%) reagenssel, és az immobilizált antigénnel mértem vissza a mintához az antigén mennyiségéhez képest kis feleslegben hozzáadott, szabadon maradt antitesteket. Megállapítottam, hogy $3,0 \mu\text{g/ml}$ AFM₁-HRP konjugátum rögzítésével és $21,25 \mu\text{g/ml}$ AFM₁ antitest alkalmazásával a legérzékenyebb a szenzor 24°C -os mérési hőmérsékleten ($0,001$ - 100 ng/ml dinamikus méréstartomány). A működési paraméterek meghatározást

követően mesterségesen szennyezett, szűréssel, centrifugálással vagy méretkizárásos centrifugálással előkészített 100× és 200× hígítású tejmintákat vizsgáltam. A legjobb eredményeket a 100× hígítású, szűrt vagy centrifugált minták alkalmazásával kaptam, ekkor a dinamikus méréstartomány 0,001-0,1 ng/ml (LOD: 0,0005 ng/ml), a gátlási középérték (IC_{50}) $0,016 \pm 0,002$ ng/ml, ill. 0,0005-0,01 ng/ml (LOD: 0,0001 ng/ml), az IC_{50} $0,0021 \pm 0,0004$ ng/ml. A mérési eredményeket kompetitív ELISA teszttel kapott eredményekkel összehasonlítva megállapítottam, hogy a fejlesztett jelölésmentes OWLS-alapú indirekt mérési eljárás alkalmas aflatoxin M_1 tejmintákból történő mennyiségi meghatározására.

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

L. acidophilus és *B. bifidum* baktériumok kimutatására QCM és OWLS-alapú direkt, áramló oldatos immunanalitikai eljárásokat fejlesztettem, továbbá indirekt eljáráson alapuló immunszenzort OWLS mérőrendszerrel aflatoxin M₁ mennyiségi meghatározására:

1. A QCM szenzorfejlesztés első lépéseként elvégzett modell vizsgálatokkal (BSA – anti-BSA molekulapár) igazoltam az áramló oldatos mérőrendszer direkt immunszenzorként való alkalmazhatóságát a szenzor érzékenységét, stabilitását alapvetően meghatározó paraméterek tanulmányozásával. Megállapítottam, hogy a QCM-szenzor Au felszínén az antitest immobilizálására a szulfo-LC-SPDP heterobifunkciós keresztkötő reagens hatékonyabban alkalmazható, mint az MHDA. A mérési módszerek – áramló injektálásos, megállított mintaáramú – közül a megállított mintaáram (10 perces inkubációs idő) az 500 µl mintahurok alkalmazásával bizonyult hatékonyak a detektált frekvenciaváltozás (Hz) alapján. Megállapítottam, hogy az alkalmazott szenzorfelszín tisztítási eljárás és az azt követő felszínmódosítás maximálisan 4 alkalommal végezhető el az egyes QCM szenzorokon az érzékenység jelentős csökkenése nélkül.

2. A modellkísérletekre és további optimalizálási lépésekre alapozva kidolgoztam a *L. acidophilus* és a *B. bifidum* baktériumok QCM-alapú direkt meghatározásának módszerét. A szenzorokkal pufferben szuszpendált sejteket mérve 10⁴-10⁷ CFU/ml volt a dinamikus méréstartomány mindkét baktériumra. Megállapítottam, hogy a kifejlesztett szenzorokkal 100× hígítású tejmintákat folyamatosan áramló rendszerben vizsgálva mindkét baktériumra szélesebb a dinamikus méréstartomány (10³-5×10⁵ CFU/ml), mint megállított mintaáram mellett (10³-10⁵ CFU/ml). A szenzorok alkalmazhatóságát 100× hígított fermentált tejminták mérésével igazoltam.

3. OWLS-alapú direkt immunszenzorokat fejlesztettem ki *L. acidophilus* és *B. bifidum* baktériumok kimutatására. Az *L. acidophilus* dinamikus méréstartománya pufferben 10^3 - 10^7 CFU/ml, *B. bifidum* esetében 10^3 - 10^6 CFU/ml. A kifejlesztett szenzorokkal $100\times$ hígítású tejmintákat áramló injektációs módszerrel vizsgálva mindkét baktérium dinamikus méréstartománya 10^3 - 5×10^5 CFU/ml. A szenzorok alkalmazhatóságát $100\times$ hígított fermentált tejminták mérésével igazoltam. Az OWLS immunszenzorok érzékenységét, szelektivitását tekintve mindkét baktériumot vizsgálva megállapítottam, hogy az antitestek a hővel előlt baktérium sejtekhez nagyobb affinitással kötődnek, mint az élő sejtekhez, mindazonáltal a szenzor szelektíven szignifikánsan nagyobb jelet ad a specifikus baktériumok holt sejtjeire, mint az élő sejtekre. A nagyobb detektált jelkülönbség az élő és a holt sejtek között a specifikus baktériumok nagyobb számát jelzi.

4. Az aflatoxin M_1 mennyiségi meghatározására indirekt, OWLS-alapú immunszenzort fejlesztettem. Megállapítottam, hogy a vizsgált mintaelőkészítési módszerek közül hatékonyan alkalmazható az egyszerű szűrés vagy centrifugálás. A $100\times$ hígítású szűrt tejmintákban az AFM₁ dinamikus méréstartománya 0,001-0,1 ng/ml, a kimutatási határ 0,0005 ng/ml. Centrifugálást alkalmazva a dinamikus méréstartomány 0,0005-0,01 ng/ml, a kimutatási határ 0,0001 ng/ml. A kidolgozott immunszenzor eredményesen alkalmazható $100\times$ hígított tejminták aflatoxin M_1 szennyezettségének gyors kimutatására.

6. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

Publikáció folyóiratban

IF-os folyóiratcikk:

Szalontai, H., Adányi, N., Kiss, A. (2012): Development of piezoelectric immunosensor for the detection of probiotic bacteria. *Analytical Letters*, 45: 1214-1229. IF: 0,965

Szalontai, H., Adányi, N., Kiss, A. (2014): Comparative determination of two probiotics by QCM and OWLS-based immunosensors. *New Biotechnology*, 31: 395-401. IF: 2,106

Szalontai, H., Kiss, A., Adányi, N. (2014): Determination of aflatoxin M1 in milk samples by an OWLS-based immunosensor. *Acta Alimentaria*, 43: 148-155. IF: 0,427

Publikáció konferencia kiadványban

Nemzetközi konferencia (teljes):

Szalontai, H., Adányi, N., Kiss, A. (2013): Development of an OWLS-based immunosensor for the detection of Aflatoxin M1. Food Science Conference 2013 - With research for the success of Darányi Program, Budapest, Hungary. Book of proceedings (ISBN:978-963-503-550-2), p. 230-233 (oral presentation).

Magyar nyelvű (összefoglaló):

Szalontai, H., Adányi, N., Kiss, A. (2011): QCM-alapú jelölésmentes immunszenzor alkalmazása probiotikus baktériumok kimutatására. MKE 1. Nemzeti Konferencia, Sopron, Magyarország. Program és előadás összefoglalók (ISBN:978-963-9970-11-3), p. 233 (poszter).

Szalontai, H., Adányi, N., Kiss, A. (2012): Probiotikumok csíraszámának meghatározása immunreakción alapuló bioszenzoros módszerekkel. Táplálkozástudományi Kutatások II., Kaposvár, Magyarország. Absztrakt CD (ISBN:978-963-9821-55-2), p. 25 (előadás).

Nemzetközi konferencia (összefoglaló):

Szalontai, H., Adányi, N., Kiss, A. (2009): Quartz crystal microbalance (QCM) based immunosensor for food quality control. Lippay János - Ormos Imre - Vas Károly Scientific Conference, Budapest, Hungary. Book of abstracts (ISBN:978-963-503-397-3), p. 65 (oral presentation).

Szalontai, H., Adányi, N., Kiss, A. (2010): Development of piezoelectric biosensor for the detection of probiotic bacteria. 2nd Workshop on specific methods for food safety and quality, Belgrade, Serbia. Book of abstracts (ISBN:978-86-7306-113-9), p. 20 (oral presentation).

Szalontai, H., Adányi, N., Kiss, A. (2012): Label-free immunosensor for the detection of probiotics in fermented dairy products. 6th Central European Congress on Food, Novi Sad, Serbia. Book of abstracts (ISBN:978-86-7994-028-5), p. 284 (poster presentation).

Szalontai, H., Adányi, N., Naár, Z., Kiss, A. (2013): Development of OWLS-based biosensor for the detection of food contaminant Aflatoxin M1. 4th MoniQA International Conference, Budapest, Hungary. Book of abstracts (ISBN:978-3-9503336-1-9), p. 138 (poster presentation).

Szalontai, H., Adányi, N., Kiss, A. (2013): Quartz Crystal Microbalance and Optical Waveguide Lightmode Spectroscopy based immunosensors for probiotics detection. Advances in Biosensors and Biodetection, Barcelona, Spain (poster presentation).

Kiss, A., **Szalontai, H.**, Adányi, N. (2013): Development of QCM-based direct, label-free immunosensor for rapid, cost-effective assessment of probiotic bacteria in

fermented dairy products. RME 2013, Food Feed Water Analysis innovations and breakthroughs, Noordwijkerhout, Hollandia. Book of abstracts, p. 115 (poster presentation).

Szalontai, H., Csiffáry, G., Adányi, N., Kiss, A. (2013): Development of two label-free immunosensors for the detection of probiotics. Sixth International Workshop on "Biosensors for Food Safety and Environmental Monitoring", Essaouira, Morocco. Book of abstracts, p. 54 (poster presentation).