

Mikotoxinok előfordulása a takarmányokban

Búza László

Európai Élelmiszerlánc Parlament - Foodlawment Egyesület

M. Schill Judit

Mezőgazdasági Szakigazgatási Hivatal Központ

A takarmányok minőségének jelentősége a táplálékláncban, hogy az állat fejlődéséhez szükséges anyagokat megfelelő mennyiségben és arányban tartalmazza, amelyet a haszonállat elfogyaszt, és előbb- utóbb jó minőségű élelmiszer alapanyag válik belőle.

De a takarmány káros anyagokat is tartalmazhat, amely az élelmiszerlánc transzfer révén a vég-ső fogyasztó, az ember számára is lehet közvetett veszélyforrás.

A növények és terményeik penészgombával történő fertőződése a mezőgazdaság régóta ismer problémája. A gabonafélék szennyezettsége jelentős mértékben függ a fajtától, az időjárástól, az alkalmazott agrotechnikától, ebbe beleértve a növényvédelmi technológiát is. A különböző penészgombák jelenléte a termés hozamot, és a termények értékesíthetőségét csökkenti, jelentős veszteséget okozva. Nem szabad elfelejtkeznünk a tömegtakarmányokról sem, amellyel kapcsolatban kevés adat áll rendelkezésre. Tekintettel arra, hogy a penészgombák egy része a termesztési területen fertőzi a növényt, így a gomba és az általa termelt mikotoxinok jelenlétével a zöld növényi állomány esetében is számolni kell. Továbbá előfordulhat a gombákkal való fertőződés, és a mikotoxin termelés a tartósítás- szilázs, illetve szenázs készítés-során is, többnyire helytelen higiénia - talajjal szennyeződés- és technológia miatt.

A penészes takarmánnyal etetett állatok nem fejlődnek megfelelően, szaporodási zavarok lépnek fel, sőt megbetegedés, elhullás is előfordulhat.

Ennek oka, hogy egyes penészgombák erős biológiai hatású anyagokat, mikotoxinokat termelnek. A mikotoxinok a takarmányok természetes módon képződő nemkívánatos anyagai.

Arra a kérdésre, hogy az általunk mikotoxinnak definiált gomba anyagcsere termékek megjelennek-e és milyen mértékben az állati eredetű élelmiszerekben, nem lehet igen-nem típusú választ adni.

Hisz jószerivel csak az aflatoxin B1- ről tudjuk a tejelő szarvasmarhák aflatoxinos takarmánnyal történő etetése következményeként, hogy a tejben, mint aflatoxin M1 megjelenik.

Bár az „egészségügyi” adatokat megtekintve az ochratoxin B1 is kimutatható állatból származó vesében, májban, sőt humán vérben és vese szövetekben is.

Az úgynevezett Fusárium toxinoknak közvetlen kimutathatósága nem jellemző az állati termékekben.

Ez persze nem azt jelenti, hogy bármelyik ismert mikotoxin vegyületnek metabolitja nem lehet jelen az állati szövetekben, de ezekről a folyamatokról, illetve analitikai nyomon-követhetőségükről nincs elegendő információnk.

Mi az, amit tehetünk és tennünk kell?

Hogy korrekt és frissített információk álljanak rendelkezésre a takarmányok talált mikotoxin szintjeiről, az érvényes szabályozásokról és az aktuális vizsgálati módszerek ismertté váljanak.

A potencionális toxintermelő penészgombák a szántóföldön és a tároló silókban, további raktárakban egyaránt jelen lehetnek.

A Fusarium, Alternaria, Aspergillus, Penicillium nemzetségbe tartozó gombafajok közül több, a számukra kedvező körülmények között leggyakrabban a Zearalenon, a DON, a T2 és metabolitjai, az Aflatoxin, az Ochratoxin toxinokat, mint anyagcseretermékeket termeli.

Az is jellemző, hogy amikor már a penészgomba rég elpusztult, „névjegye” a toxin, a növényi sejtekben hosszú ideig stabil marad. A mikotoxinok nagymértékben ellenállóak a külső behatásokkal szemben, és ha bomlanak is a metabolitjaik nem kevésbé toxikusak.

A mikotoxinok jelenléte a takarmányokban, mint komoly veszélyforrás a világ országainak többségében valamilyen szabályozást indukált.

A szabályozás feltételei közül a legfontosabbak:

- a toxikológiai adatok ismerete,
- a mikotoxinok előfordulásának adatai a különböző takarmányokban
- a mikotoxinok koncentráció eloszlásának ismerete egy tételen belül
- a megfelelő analitikai módszer az adott mikotoxin meghatározására
- törvényi szabályozás azokban az országokban, amelyekkel kereskedelmi szerződés van érvényben, és ezért annak megfelelő minőségű árú szállítása szükséges.

§ Az európai országok többségében -33 ország- az Aflatoxin B1-re vonatkozóan van érvényes szabályozás. Az Ochratoxin, DON, Zearalenon mikotoxinok esetében 5-10 között van azoknak az országok száma, ahol bevezettek valamilyen szabályozást.

§ Észak Amerikában az Aflatoxin B1 és a Don toxinra vonatkozik teljes körű reguláció.

§ Latin Amerikában szinte kizárólag az Aflatoxin B1 szabályozott, míg a többi toxinra csupán egy, legfeljebb két országban létezik határérték.

§ Ázsiában hasonló a trend, ugyanakkor feltűnő, hogy az Aflatoxin B1 mellett az összes Aflatoxin / B1, B2, G1, G2 / koncentráció is szabályozás alá esik.

§ Az érdekesség kedvéért, még az afrikai földrészen is 4-6 között van a takarmányok aflatoxin szennyezettségét limit értékhez kötött országok száma.

§ Az Európai Unióban a legátfogóbb szabályozás a takarmány alapanyagok és a különböző takarmánykeverékekben, az aflatoxin B1-re van /2002/32/EK/.



Az Európai Unió Bizottsága meghatározott irányértékeket (2006/576/EK ajánlás), amelyekben helyet kaptak a takarmány alapanyagok is.



MTA Állatorvosi Bizottsága javaslata a mikotoxin határértékekre a depresszív és a toxikus szinteket különbözteti meg, mindezeket kizárólag takarmánykeverékekre, mint a fogyasztott termékre vonatkoztatva. Ott viszont figyelembe veszik a különböző állatfajok, különböző hasznosítási irányait, kor- csoportjait.

A takarmányok mikotoxin vizsgálati eredményei tekintetében 2003-tól kezdve vannak feldolgozott adataink, amelyeket éves összesítésben, takarmány alapanyagok és takarmány keverékek bontásban az alábbiakban mutatjuk be.

Az egyes toxinféleségek vonatkozásában elvégzett vizsgálatok számát bemutató diagramok bevezetőjeként a toxin szerkezeti képlete, valamint az azokat termelő, jellemző gombák neve szerepel.

A toxinféleségenkénti mérési eredményeket bemutató oszlopdiagramokon a jogszabályi és az ajánlási „határ” értékek alapján készített, különböző színnel jelölt „tartományok”, a hozzátartozó megoszlások láthatók.

A takarmány alapanyagok mérési csoport a tétel azonosságokat tekintve bizonyosan nem egyezik meg a vizsgált takarmánykeverékeket összetevőként alkotó alapanyagokkal. Ezért a két vizsgálati csoporton belül leginkább csak az egyes takarmányokban található mikotoxinokra jellemző tendenciák , illetve az évek közötti változások figyelhetők meg.

Ugyanakkor informatív lehet egy olyan monitoring vizsgálat, amely a különböző agrár környezetben megtermelt takarmány alapanyagokat végig kíséri, a takarmány lánc kritikus helyeit jelölve mérési pontoknak.

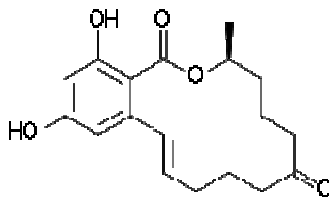
A mikotoxinok analitikai vizsgálatainak elemzésekor mindenképpen szót kell ejteni a mintavételezés helyes végrehajtásának fontosságáról.

A mikotoxin szennyezettség ugyanis nem egyenletesen oszlik el a tételben, hanem jellemzően göcösan, ezért több ponton kell mintát venni, és részmintákat alaposan homogenizálni szükséges. Megfelelően járunk el, ha a takarmányok mikotoxin vizsgálatához szükséges mintavételét a 401/2006/EK Európai Bizottság Rendelet előírásai szerint végezzük el.

Az alább bemutatott, feldolgozott hatéves adatbázis mintaféleségei a takarmány alapanyagok vonatkozásában a jellemzően hagyományos gabonafélék és termékein kívül a szója, a napraforgó, a repce, a gyapotmag, lenmag termékeket is magukba foglalják. Ahogy a takarmánykeverékeknek is széles spektruma – állatfajoknak, különböző fajtáknak és hasznosítási irányoknak megfelelő- volt a mikotoxin vizsgálatok tárgya.

Előremutató, hogy a még feldolgozás alatt lévő 2009.évi adatbázis már tartalmaz a tömegtakarmányokra is vonatkozóan is mérési eredményeket, valamint a takarmány alapanyagok palettája is tovább bővült.

Zearalenon (F2 toxin)



Néhány zearalenont termelő gomba:

Fusarium culmorum
Fusarium oxysporum

Fusarium graminearum
Fusarium roseum

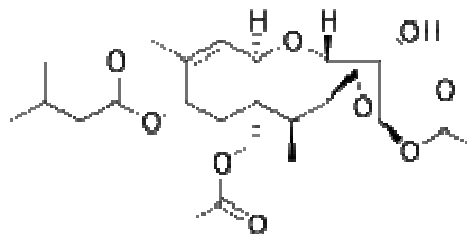
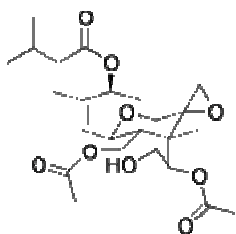
Vizsgálatok száma mintafajtánként

Év	Alapanyag	Takarmánykeverék
2003	128	155
2004	50	91
2005	92	97
2006	40	82
2007	85	153
2008	56	165

Mérési eredmények eloszlása (%)

	2003	2004	2005	2006	2007	2008
	Alapanyagok					
0,010 mg/kg alatt	77,3	88,0	76,1	62,5	60,0	80,4
0,010- 0,100 mg/kg	14,8	8,0	10,9	25,0	30,6	12,5
0,100- 0,500 mg/kg	7,0	2,0	10,9	7,5	8,2	5,4
0,500- 1,000 mg/kg	0,0	2,0	1,1	2,5	0,0	1,8
1,000 mg/kg felett	0,8	0,0	1,1	2,5	1,2	0,0
	Takarmánykeverékek					
0,010 mg/kg alatt	47,1	95,6	73,2	28,0	22,2	61,2
0,010- 0,100 mg/kg	48,4	3,3	24,7	59,8	75,2	38,2
0,100- 0,500 mg/kg	3,9	1,1	1,0	11,0	2,0	0,6
0,500- 1,000 mg/kg	0,6	0,0	1,0	1,2	0,7	0,0
1,000 mg/kg felett	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

T2 toxin



Néhány T2 toxint termelő gomba:

Fusarium moniliforme

Fusarium equiseti

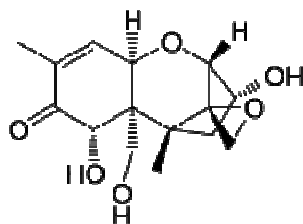
Vizsgálatok száma mintafajtánként

Év	Alapanyag	Takarmánykeverék
2003	147	177
2004	107	101
2005	87	90
2006	52	77
2007	29	73
2008	12	78

Mérési eredmények eloszlása (%)

	2003	2004	2005	2006	2007	2008
	Alapanyagok					
kimutatási határ alatt	94,6	99,1	90,8	90,0	72,4	75,0
k.h - 0,100 mg/kg	5,4	0,9	9,2	8,0	20,7	25,0
0,100 -0,500 mg/kg	0,0	0,0	0,0	2,0	6,9	0,0
0,500-1 mg/kg	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
> 1 mg/kg	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Takarmánykeverékek					
kimutatási határ alatt	83,1	97,0	88,9	86,9	78,1	89,7
k.h - 0,100 mg/kg	14,1	3,0	10,0	11,9	15,6	9,0
0,100 -0,500 mg/kg	1,7	0,0	1,1	1,2	1,6	1,3
0,500-1 mg/kg	1,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
> 1 mg/kg	0,0	0,0	0,0	0,0	4,7	0,0

Deoxinivalenol (DON toxin)



Néhány deoxinivalenolt termelő gomba:

Fusarium moniliforme

Fusarium equiseti

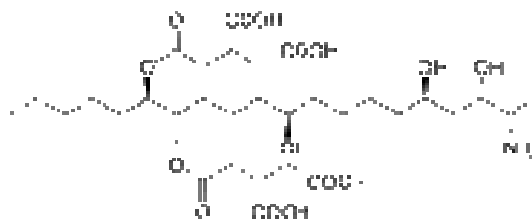
Vizsgálatok száma mintafajtánként

Év	Alapanyag	Takarmánykeverék
2003	222	165
2004	94	92
2005	123	99
2006	65	94
2007	144	580
2008	118	1449

Mérési eredmények eloszlása (%)

	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Alapanyagok						
0,040 mg/kg alatt	30,2	73,4	34,1	11,9	32,9	50,0
0,040 - 0,100 mg/kg	10,4	7,4	15,4	9,0	13,3	16,1
0,100 -0,500 mg/kg	26,1	14,9	29,3	43,3	34,3	13,6
0,500 - 1,000 mg/kg	11,7	3,2	6,5	14,9	11,9	8,5
1,000 - 2,000 mg/kg	11,3	1,1	5,7	9,0	3,5	5,1
2,000 mg/kg felett	10,4	0,0	8,9	11,9	4,2	6,8
Takarmánykeverékek						
0,040 mg/kg alatt	13,3	63,0	12,1	5,3	10,0	25,5
0,040 - 0,100 mg/kg	10,3	20,7	22,2	12,8	20,2	32,0
0,100 -0,500 mg/kg	60,6	16,3	56,6	46,8	57,2	37,5
0,500 - 1,000 mg/kg	10,9	0,0	7,1	20,2	11,4	3,8
1,000 - 2,000 mg/kg	4,8	0,0	2,0	8,5	1,0	1,2
2,000 mg/kg felett	0,0	0,0	0,0	6,4	0,2	0,1

Fumonizin összes



Néhány fumonizint termelő gomba:

Fusarium moniliforme

Alternaria alternata

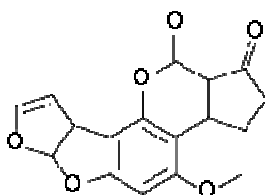
Vizsgálatok száma mintafajtánként

Év	Alapanyag	Takarmánykeverék
2006	7	6
2007	36	15
2008	23	5

Mérési eredmények eloszlása (%)

	2006	2007	2008
	Alapanyagok		
0,010 mg/kg alatt	14,3	16,7	0,0
0,010- 0,100 mg/kg	42,9	33,3	73,9
0,100- 0,500 mg/kg	28,6	30,6	26,1
0,500- 1,000 mg/kg	14,3	8,3	0,0
1,000 mg/kg felett	0,0	11,1	0,0
	Takarmánykeverékek		
0,010 mg/kg alatt	50,0	0,0	0,0
0,010- 0,100 mg/kg	0,0	33,3	40,0
0,100- 0,500 mg/kg	33,3	60,0	60,0
0,500- 1,000 mg/kg	16,7	6,7	0,0
1,000 mg/kg felett	0,0	0,0	0,0

Aflatoxin B1



Néhány aflatoxin B1-et termelő gomba:

Aspergillus flavus

Aspergillus parasiticus

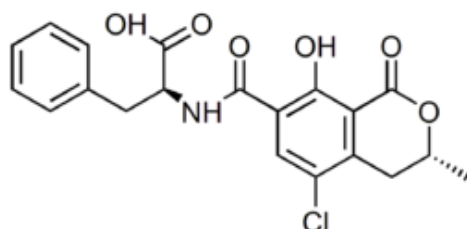
Vizsgálatok száma mintafajtánként

Év	Alapanyag	Takarmánykeverék
2003	475	137
2004	82	230
2005	87	114
2006	24	48
2007	66	208
2008	60	747

Mérési eredmények eloszlása (%)

	2003	2004	2005	2006	2007	2008
	Alapanyagok					
0,001 mg/kg alatt	66,1	98,8	94,7	95,8	100,0	95,0
0,001- 0,005 mg/kg	32,2	1,2	3,5	0,0	0,0	3,3
0,005- 0,010 mg/kg	1,7	0,0	1,8	4,2	0,0	1,7
0,010- 0,020 mg/kg	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,020 mg/kg felett	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	Takarmánykeverékek					
0,001 mg/kg alatt	95,6	95,2	94,7	97,9	97,1	91,6
0,001- 0,005 mg/kg	4,4	4,3	4,4	0,0	2,4	8,3
0,005- 0,010 mg/kg	0,0	0,4	0,0	0,0	0,5	0,1
0,010- 0,020 mg/kg	0,0	0,0	0,9	0,0	0,0	0,0
0,020 mg/kg felett	0,0	0,0	0,0	2,1	0,0	0,0

Ochratoxin A



Néhány ochratoxin A-t termelő gomba:

Aspergillus ochraceus

Penicillium viridictum

Vizsgálatok száma mintafajtánként

Év	Alapanyag	Takarmánykeverék
2003	47	55
2004	54	45
2005	43	38
2006	17	25
2007	50	64
2008	43	66

Mérési eredmények eloszlása (%)

	2003	2004	2005	2006	2007	2008
	Alapanyagok					
0,001 mg/kg alatt	83,0	98,1	88,4	100,0	82,4	93,0
0,001- 0,005 mg/kg	10,6	0,0	7,0	0,0	5,9	7,0
0,005- 0,010 mg/kg	2,1	0,0	2,3	0,0	5,9	0,0
0,010- 0,020 mg/kg	0,0	0,0	0,0	0,0	5,9	0,0
0,020 mg/kg felett	4,3	1,9	2,3	0,0	0,0	0,0
	Takarmánykeverékek					
0,001 mg/kg alatt	78,2	66,7	81,6	100,0	48,0	72,7
0,001- 0,005 mg/kg	16,4	28,9	18,4	0,0	44,0	24,2
0,005- 0,010 mg/kg	3,6	2,2	0,0	0,0	4,0	3,0
0,010- 0,020 mg/kg	1,8	2,2	0,0	0,0	4,0	0,0
0,020 mg/kg felett	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Rövid elemzés, bár a fenti számok önmagukért beszélnek:

A vizsgált évek változó mintaszámára jellemző, hogy azok az EU csatlakozást követően jelentősen csökkentek.

Az okokat keresve, a „Fuzárium toxinok” esetében a nemzeti szabályozást az EU kötelező előírások / akkor még ajánlások is/ hiánya negligálta, amely hatott a vizsgálati aktivitásra.

Az aflatoxin b1, az egyetlen toxin, amelyre vonatkozóan a takarmányok esetében van közösségi határérték. Ugyanakkor a „határok nélküli” Európa a kötelező vizsgálatok egy részét megszüntette, ebből következően az aflatoxin b1-re vonatkozó „volt határkirendeltségi”, elsősorban takarmány alapanyag vizsgálatokra a csatlakozás után nem került sor.

Az eredmények elemzése során a deoxinivalenolt / DON toxin/ megkülönböztetett figyelem illeti, mert „marker” toxin a Fuzáriumok esetében. Ha a DON jelen van, akkor biztosan volt Fuzárium gomba fertőzés, és ott van a Zearalenon toxin/F2/ is, hozzá képest egy nagyságrenddel alacsonyabb szinten.

Ráadásul a DON toxin, például a szintén trichotecén toxincsoportba tartozó – T2 toxinhoz- képest lényegesen stabilabb, na ezért is lehet jó **marker**.

A vizsgálati eredmények a Takarmányvizsgáló Nemzeti Referencia Laboratórium rendszeréből származnak, az alábbi táblázatban hivatkozott módszerek szerint.

Mikotoxin	Módszer azonosító	Mérési módszer
Zearalenon (F2 toxin)	F2-HPLC-1:2000 QM-M-F2-HPLC-2:2007	HPLC-FLD/PDA
T2 toxin	Trichotecén-HPLC-1:2001 QM-M-Trichotecén-HPLC-2:2007	HPLC-MS
Deoxinivalenol (DON)	Trichotecén-HPLC-1:2001 QM-M-Trichotecén-HPLC-2:2007	HPLC-MS
Fumonizin	Fum-HPLC-1:2004 QM-M-HPLC-2:2007	HPLC-MS
Aflatoxin B1	Afla-HPLC-1:1998 MSZ EN ISO 17375:2006	HPLC-FLD
Ochratoxin A	OCHR-HPLC-1:1999 QM-M-OCHR-HPLC-2:2007	HPLC-FLD

A mikotoxinok meghatározására a fentiekén kívül egyéb módszerek is rendelkezésre állnak.

Milyen módszerekkel mérhetők a takarmányok és alapanyagaik mikotoxin szennyezettsége?

A módszer történelemben a vékonyréteg-kromatográfia (TLC) háttérbe szorulása és az ELISA módszer, valamint az immunaffin oszlopokkal történő szelektív mintatisztítás után, esetenként származékképzést követően, a nagyhatékonyságú folyadék-kromatográfia /HPLC/ és a fluoreszcenciás detektálás /FLD/ terjedt el.

A Fusárium toxinok csoportjába tartozó trichotecén vázas toxinok / legjellemzőbbek -T2 , DON, NIV-/ vizsgálatára a tömegspektrometriás detektálásos folyadék- kromatográfiás(HPLC MS) módszerek bizonyultak a legmegbízhatóbbnak.

A trichotecén toxinok mérésére gázkromatográfiás módszerekkel is voltak próbálkozások, de ezek a származékképzés utáni „elektron befogásos detektálás” /ECD / alapuló módszerek nem terjedtek el a laboratóriumokban.

Annál népszerűbbek viszont az ELISA gyors módszerek, amelyek végrehajtása nagy pontosságot igényel, és csak azokra a mintamatrixokra alkalmazható, amelyekre érvényes validációt végzett az ELISA kité, illetve módszer kibocsátója, vagy az alkalmazó laboratórium. Mindezek mellett nagy sorozatú minták szűrő módszerének ajánlhatóak.

Léteznek már screening nagyműszeres módszerek is. Ilyen a 16 toxin – Nivalenol, Deoxynivalenol, FusarenonX, 3-Ac-deoxynivalenol, Diacetoxi-Scirpenol, T-2, HT-2, Zearalenone, Neosolaniol, Aflatoxin B1, Aflatoxin B2, Aflatoxin G1, Aflatoxin G2, Fumonisin B1, Fumonisin B2, Ochratoxin A - szűrésére alkalmas multitoxin HPLC MSMS módszer. Ennél a módszernél egy hatékony extrakció alkalmazását követően nincs cleanup /speciális tisztítás/ használat, csak szűrés, centrifugálás a mintatisztítás eszköze, a detektálás viszont csak triplaquadropol MSMS - vagy azzal azonos műszaki színvonalú - technikával lehetséges.

Ugyanakkor konfirmáló – megerősítő - eljárásokat mindenképpen az egyedi, specifikus, a különböző mátrixféleségekre validált módszerek jelenthetik.

Nincs jogszabályokban meghatározva, előírva, hogy milyen módszerrel történhet a vizsgálat, azonban fontos, hogy a laboratórium rendelkezzen megfelelő jártassággal, és az adott módszerek tekintetében akkreditált legyen. Nagy jelentőségűek a körvizsgálatok, hiszen biztosítani kell, hogy ugyanaz a minta minden vizsgáló laboratóriumban- a hibahatáron belül- azonos eredményt adjon.

A laboratóriumi vizsgálat során elkövetett hibának, pontatlanságnak ugyanis komoly gazdasági következményei lehetnek.

Köszönet nyilvánítás:

Ezúton mondunk köszönetet a Takarmányvizsgáló Nemzeti Referencia Laboratórium munkatársainak a mérések elvégzéséért, és Dömsödi József minőségügyi vezetőnek az anyag összeállításában nyújtott technikai segítségéért.