

Eszterházy Károly Főiskola
Élelmiszertudományi Intézet
Kémia, Borászati Kémia és borászat Tanszék

Jelentősebb mikotoxinok hőtranszformációjának
vizsgálata élelmiszerekben, eltérő térfogatnövelő szerek
hatására.

Készítette:
Pokornyai Gábor

Kémia-BSc, borász analitikus

Konzulens:
B. Tóth Szabolcs
adjunktus

Eger, 2012

Tartalom

Bevezetés	3
Kutatásomcélja:.....	5
1. A mikotoxinokról általában	6
1.1 A mikotoxinok hatásai és útja a szervezetben	8
1.2 Fontosabb toxinok biológiai hatásai:	11
2. Élelmiszerbiztonság és nyomon követhetőség	13
3. Mikotoxin botrányok a nagyvilágban	14
4. Zearalenon	17
4.1 Képződésének feltétel	18
4.2 Biológiai hatás	18
4.3 Határértékek:	19
5. A patulin	21
5.1 Fizikai és kémiai tulajdonsága	21
5.2 Biológiai hatása	21
6. Aflatoxinok (B1).....	23
7. A kísérlethez alkalmazott eszközök és módszerek alapjai.....	25
7.1 Elválasztás technika.....	25
7.2 Koncentráció, töményítés	28
Töményítés atmoszférikus vagy csökkentett nyomáson rotációs bepárlóban.....	28
8. Kísérleti rész:	29
9. Vizsgálati model (Zearalenon, Aflatoxin B1 és Patulin):	30
10.MÉRÉSI ADATOK.....	32
10.1 Visszanyerési tesztek:.....	32
11. ÖSSZEGZÉS	41
12. BIBLIOGRÁFIA.....	42

Bevezetés

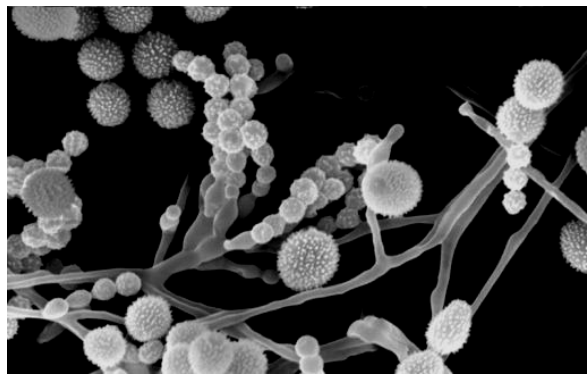
“Felfedezni valamit annyit tesz, mint látni, amit mindneki lát,

és közben arra gondolni amire még senki.”

(Szent-Györgyi Albert)

Az élelmezés során alapvető fontosságú, hogy a fogyasztókhöz csak biztonságos élelmiszerek jussanak el. Az élelmiszereket szennyező anyagok mennyiségének és minőségének megfelelő vizsgálata nélkül az emberre rendkívül veszélyesek is lehetnek. Az élelmiszer alapanyagok és az élelmiszerek minőségét, az emberi szervezetre káros anyagok hatását számos tényező (kémiai, mikrobiológiai, toxikológiai, stb.) befolyásolja.

A káros anyagok egyik fontos részéhez tartoznak a különböző fonalas gombák által termelt másodlagos metabolitok is ezeket mikotoxinoknak nevezzük.



1.kép:Mikroszkóppal felnagyított gomba¹

A mikotoxinok az egész táplálék láncba előfordulhatnak. Óriási problémát jelent a biotermékek elszaporodása a piacon, mert ezekben fokozottan jelentkeznek a problémák.

¹ Gladiatorplus: <http://www.gladiatorplus.com/upload/image/video/738.jpg> (Letöltés dátuma: 2012.08.07)

Az Európai Unió EU 5-ös kutatási programjában az élelmiszerbiztonsági kérdések kapták a legnagyobb szerepet.² A világ egyre több országába történnek jelentős károk a gomba fertőzések következtében, ezek a károk milliárdos nagyságrendűek.³ Az USA-ban és Kanadában 1993-2000 között évente felléptek pusztító járványok, az összesített károk itt is milliárdosak, de dollárban.⁴ Kínában sok millió hektáron minden évben jelentkezik, de nincs a földgolyónak olyan része, ahol kisebb-nagyobb gyakorisággal ne károsítana. Ugyanez érvényes a kukoricára is, amely toxikológiailag a búzánál is rosszabb helyzetben van. A növénytermesztésben, az állattenyésztésben, és mint később kiderült, többnyire az emberre és állatra is igen ártalmasak ezek a mikotoxinok.

A biotermékekben megtiltották a növényvédő szerek túlnyomó többségét amely miatt a biotermelési környezet rendkívül alkalmas a gombák elszaporodására és fertőzésére. Biotermesztésben az a veszélyes hogy a fungicideknél sokkal mérgezőbb és ellenállóbb nem bomlékony gombatoxinok termelődhetnek a növényekben, és bejuthatnak a tápláléklánc alapját képező gabona alapanyagokkal a táplálékláncba. Ezzel pont azokat az embereket veszélyeztetik akik inkább többet költenek az „egészségesebb” biotermékekre.

² MESTERHÁZY Ákos: *A mikotoxinok és az élelmiszerbiztonság, a megoldás lehetőségei*
<http://www.kfki.hu/chemonet/osztaly/eloadas/mesterhazya.html> (Letöltés dátuma: 2012.08.05.)

³ Dr. MÉZES Miklós: *Penészgombák és mikotoxinok a takarmányokban és az ellenük való védekezés lehetőségei*
<http://www.pointernet.pds.hu/ujsagok/agraragazat/2006/09/20061011215726440000000690.html>
(Letöltés dátuma: 2012.08.05.)

⁴ MESTERHÁZY Ákos: *A mikotoxinok és az élelmiszerbiztonság, a megoldás lehetőségei*
<http://www.kfki.hu/chemonet/osztaly/eloadas/mesterhazya.html> (Letöltés dátuma: 2012.08.05.)

Kutatásomcélja:

A mai élelmiszer alapját képező búza a mezőgazdasági termelésben történő termesztése során biogazdálkodás miatt a növényvédő szerek felhasználása háttérbe szorult.



2.kép:Gombásodott búza⁵

Ennek következménye hogy a növényeken szívesen megtelepednek a gombák (penészgombák) mivel számukra kedvezően változott az életkörnyezet.⁶ A penészgombák által termelt másodlagos anyagcseretermékeket hívjuk mikotoxinoknak ezek termelése, összes mennyisége a gombák számának növekedésével egyenes arányossággal nő amely az élelmiszer láncba akármilyen kenyérfélékben előfordulhat és ezek óriási jelentőséggel bírnak.⁷ Több ezer mikotoxint tartanak számon ezek közül nem mindegyik birtokol mérgező tulajdonságot. A zearalenone választására azért került sor mert az egészségügyi határértékének a koncentrációja rendkívül alacsony, valamint gyakori az élelmiszer alapanyagokban. A toxint termelő gombafajok közül a Giberrella és Fusarium fajok termelnek zearalenont, amely toxin komoly ferőzéseket okozhat a búza fajokon is.⁸ A kutatás során a Zearalenon mennyiségének változását vizsgálja hogy a térfogatnövelőszer és a toxinmennyiség milyen összefüggésben van. Leggyakrabban használt BL-55-ös búzafinomlisztet vizsgáltam ami a legtöbb kenyérfélében és péksütemény alapjaként szolgál,⁹ így rendkívül fontos ezek vizsgálata.

⁵ GTM http://www.gtm.hu/php_images/wheat-by-bernat-280x186.jpg (Letöltés dátuma: 2012.08.08)

⁶ Kertészeti Áruháza: *Penészgombák* <http://www.tuja.hu/kerteszeti-lexikon/peneszgombak.html> (Letöltés dátuma: 2012.08.14.)

⁷ Mycotoxins: <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/mycotoxins.htm> (Letöltés dátuma: 2012.08.15)

⁸ Fusarium: <http://en.wikipedia.org/wiki/Fusarium> (Letöltés dátuma: 2012.10.01)

⁹ EccoFood: *Búzafinomliszt BL-55* http://www.eccofood.hu/index.php?option=com_virtuemart&view=productdetails&virtuemart_product_id=37&virtuemart_category_id=11&Itemid=120 (Letöltés dátuma: 2012.09.20)

1. A mikotoxinokról általában

A mikotoxinok a különböző fonalas gombák által, extracellulárisan kiválasztódó, másodlagos metabolitjai. Élettani hatásuk erőteljes nem csak a gerinces állatokra és az emberi szervezetre jelentenek veszélyt hanem a növényi szervezeteknél is jelents károkat okoznak, ennek következményeképpen az élelmiszerláncba tökéletesen végigfuthatnak.



3.kép: Megfertőződött kalászem¹⁰

Szerkezetük, kémiai összetételük, hatásmechanizmusuk rendkívül változatos. Többnyire kis molekulasúlyú környezeti hatással szemben igen ellenálló, jelentős biológiai aktivitással rendelkező molekulák.¹¹ Kémiailag stabilak, az élelmiszeripari feldolgozás során alkalmazott hőhatás és a legtöbb használt vegyi anyagnak ellenállnak. A mikotoxinok mennyiségéhez képest a patológiai hatást kiváltók száma néhány tucat.¹² A penész jelenléte az élelmiszerben nem jelent automatikusan mikotoxin jelenlétet is, mivel a gomba csak egy biokémiai inger hatására termeli a toxint, amit jelenleg még nem ismerünk. Rég elmúlt 40 éve annak, hogy a modern mikotoxikológia időszaka az aflatoxinok felfedezésével elindult.

¹⁰ Uwex: http://fyi.uwex.edu/fieldcroppathology/files/2011/03/Fusarium_Esker.jpg (Letöltés dátuma: 2012.08.07)

¹¹ Webbeteg: *Az élelmiszerek és a mikotoxinok* <http://www.webbeteg.hu/cikkek/egeszseges/4752/az-elelmiszerek-es-a-mikotoxinok> (Letöltés dátuma: 2012.08.05.)

¹² Magyar élelmiszer biztonsági hivatal: *Mikotoxinok* http://www.mebih.gov.hu/attachments/310_Mikotoxinok_Reszletes.pdf (Letöltés dátuma: 2012.09.28.)

Azóta számos gomba által termelt toxint, vagy mikotoxint fedeztek fel, olyanokat is amelyekről csak idővel bizonyosodott be hogy mérgező, míg mások egyelőre a laboratóriumok kutatási világába maradtak. Az élelmiszerbiztonsági kérdések megoldásában fontos tevékenységnek minősül a mikotoxinok tanulmányozása, beleértve a kimutatási eljárások tökéletesítését, bioszintézisüknek, toxikológiájuknak, járványtanuknak megismerése, valamint a védekezési eljárások fejlesztése. A mikotoxinok legtöbb esetben szántóföldön képződnek, de előfordulhat a betakarításkor, szállításkor, és a tárolási műveletek során is.¹³ A toxintermelő gombák közül szántóföldi penészeknek nevezzük azokat amelyeknek szaporodásukhoz magasabb nedvességtartalmat igényelnek, amelyek 20% alatti nedvességtartalom alatt képesek szaporodni raktári penészeknek nevezzük. Két fő csoportot ezek alkotják ezen belül is a fontos toxintermelők között az *Aspergillus* és a *Penicillium* fajokat csoportosíthatjuk a raktári penészekhez, a *Fusarium*, fajok pedig a szántóföldi penészekhez.¹⁴ Az összes mikotoxint termelő gombák alapvető életfeltétele a víz, továbbá a megfelelő hőmérséklet. A tárolás során a növény tárolásának hőmérséklete, szellőztetettsége, és a gomba szennyeződés koncentrációja jelentős szerepet töltenek be a mikotoxinok felhalmozódásában. Egy gombafaj többféle mikotoxin egyidejű szintetizálására is képes lehet ugyanakkor egy adott mikotoxint számos gombafaj képes termelni.

Jelentőséggel bíró fajok	
Raktári penészek toxinjai	Szántóföldi penészek toxinjai
Aflatoxinok	Zearalenon (F-2 Toxin)
Citrinin	Trichothének (T-2 toxin)
Patulin	Diacetoxiscirpenol
Rubratoxin B	Deoxinivalenol
Ochraotoxin A	Nivalenol
<i>Microdochium nivale</i> (F. nivale)	Fumonizinek

1. táblázat: Toxinok csoportosítása¹⁵

¹³ Élelmiszerek és takarmányok mikrobiális eredetű károsodása:

<http://zeus.nyf.hu/~tkgt/okse/noteta08/note0806.pdf>

¹⁴ PÉTERI Adrienn: *Mikroszkópikus Gombák mikotoxin-bontó képességének vizsgálata*

http://www2.sci.u-szeged.hu/fokozatok/PDF/Peteri_Adrienn_Zsanett/PZS_doktori_disszertacio.pdf

(Letöltés dátuma 2012.10.15.)

¹⁵ Dr. MÉZES Miklós *Penészgombák és mikotoxinok a takarmányokban és az ellenük való védekezés*

lehető <http://www.pointinternet.pds.hu/upload/PUBLIKACIO/20020524175719468000000415/P200610172>

12406229080000000N.jpg (Letöltés dátuma: 2012.10.15.)

Mikotoxin	Penészgomba	Előfordulás
DON,T-2 toxin,zearalenon,fumonizin	Fusarium fajok	Szénák, szalmák,szilázsok,gabona magvak
DON,T-2	Trichoderma fajok	Olajmagvak
Alternariol	Alternaria fajok	Szénák, szalmák, gabonamagvak
Satratoxin	Stachybotrys atra	Szénák, szalmák
Ochratoxin	Aspergillus és penicilium fajok	Gabonamagvak
Patulin, roquefortin	Penicilium fajok	Szénák,szalmák
Aflatoxin	Aspergillus fajok	Olajmagvak, szénák

2. táblázat: Jelentősebb raktári és szántóföldi penészek gombák fajai és toxinjai¹⁶

1.1 A mikotoxinok hatásai és útja a szervezetben

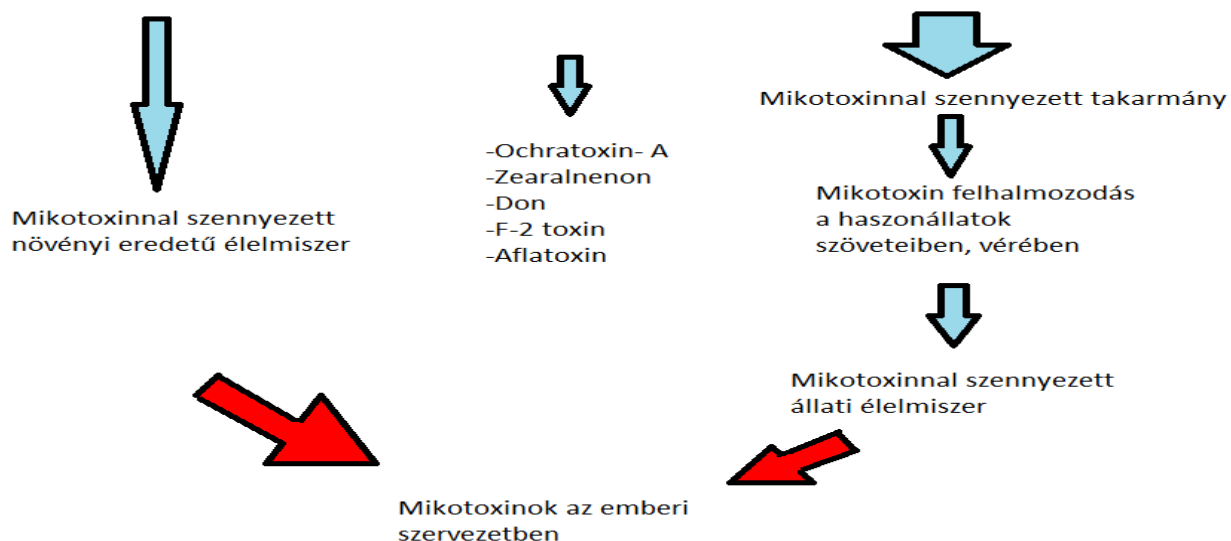
A penészgombákkal a takarmánnyal érintkezés periódusában kiemelten kell számolni, mivel a gabonatoxinok egy apró felelőtlenséggel meglehetősen könnyen bekerülnek az emberi szervezetbe- például bio müzslivel növényi eredetű élelmiszerekkel, élezereti cikkekkel, ezeken belül: korpában gazdag kenyérrel, bio péksüteményekkel, sörrel, kávéval. A legveszélyesebb toxintermelők közé tartoznak a Fusarium, Aspergillus, Penicillium és Alternaria nemzetségek fajai. A gabonákat mindegyik fertőzte már meg és fertőzi is napjainkban de toxikológiai problémákat leginkább csak a Fusarium, Aspergillus, Penicillium okoz¹⁷, míg az alternaria fajok elsősorban a zöldségekben és a gyümölcsökben okoznak toxinszennyezést. A mikotoxin mérgezéshez általában több mikotoxin egyidejű, nagy mennyiségű jelenléte szükséges, mégpedig hosszabb időn keresztül, legyengült immunrendszer mellett, de ennek ellenére egy fajta mikotoxin

¹⁶ VÉGH Éva Kinga: *Zearalenon hőtranszformációjának vizsgálata*, 2010. pp. 6-7.

¹⁷ToxFreeFeed: *Gabona szennyezések* <http://www2.sci.u-szeged.hu/microbiology/TOXFREEFEED/indexhu.php> (Letöltés dátuma 2012.09.28)

(például deoxynivalenol) hosszabb ideig tartó kis mennyiségű mérgezési is okozhat

A növény és termés fertőződése mikotoxint termelő szántóföldi és raktári penészgombatörzsekkel



megbetegedéseket.

1.ábra A mikotoxinok lehetséges útjai a szervezetbe¹⁸

A szervezetbe mint látjuk könnyen bejuthat a toxin, ez a bejutott mennyiség nagyrészt ellenálló az emésztési folyamatokkal szemben, a gyomor sósav tartalma sem közömbösíti őket a test hő változásait meg sem érzik mivel olvadáspontjuk jócskán 200 celsius fölött van. A toxinok jelentős része a bélsárral kiürül¹⁹. A felszívódás esetlegesen a vékonybélből történik majd a toxin egy része visszajut a bélcsőbe, és csak a rendszerint kisebb része jut a vérkeringésbe, ahonnan tejjel/ vizelettel kiürül a szervezetből.

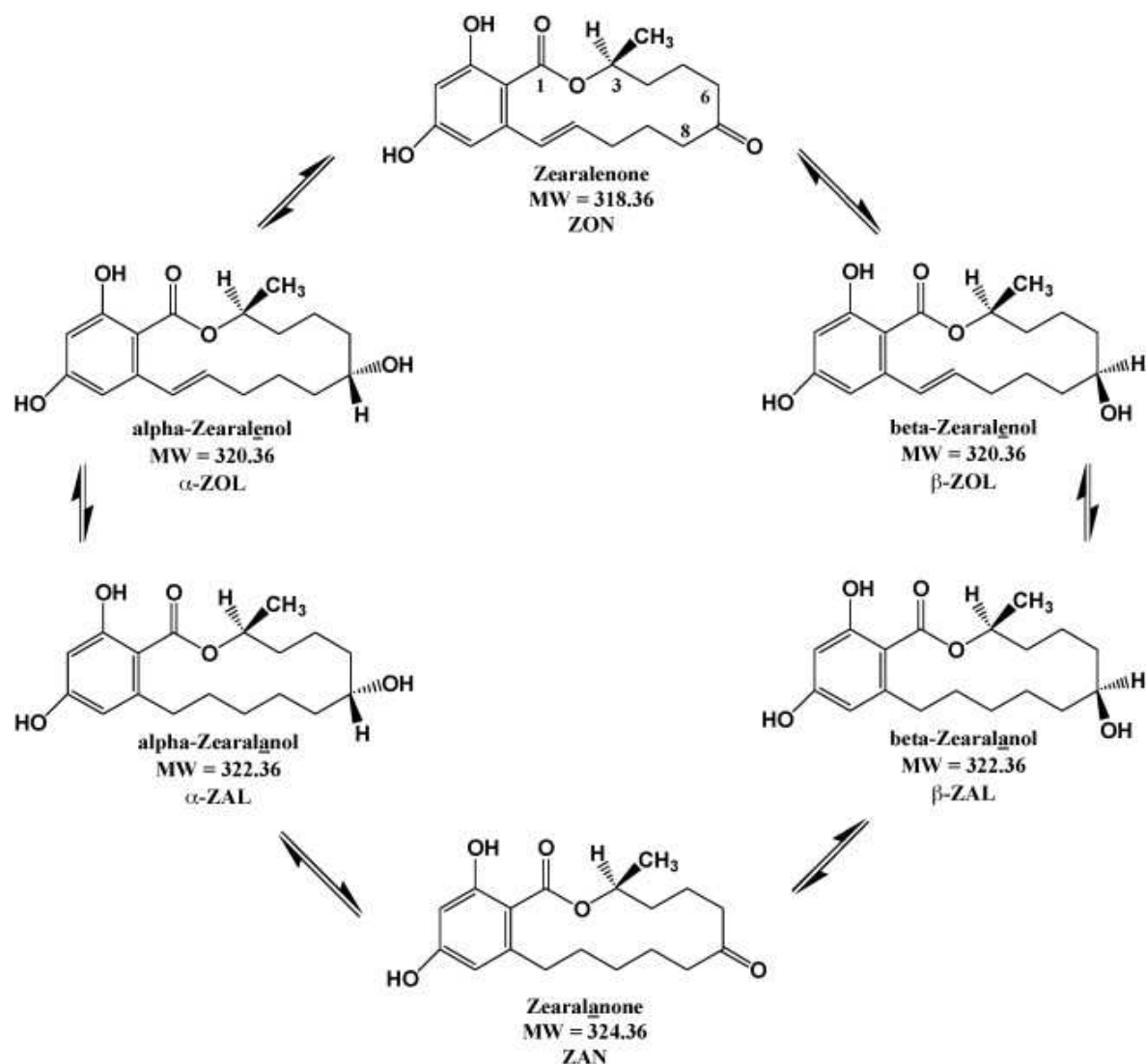
A tejmirigy és a vese általában csak koncentrálja a toxinokat. Az izomzatba csak a keringésben lévő mennyiségből juthat. A szervezetben mikotoxinok több átalakuláson is keresztül mennek, amely folyamat meghatározott sémákon keresztül történik ezt hívjuk metabolizációnak.²⁰ Ezen sémák: Közömbösítés, Oxidáció, Redukció, Bontás, Szintézis. Sajnos előfordul hogy egy metabolizáció során toxikusabb

¹⁸ VÉGH Éva Kinga: Zearalenon hőtranszformációjának vizsgálata, 2010. pp. 12.

¹⁹ T. MALOVRH B. Jakovac-Strajn: *Feed contaminated with Fusarium toxins alter lymphocyte proliferation and apoptosis in primiparous sows during the perinatal period Food and Chemical Toxicology*, 2010, pp. 2907-2912

²⁰ W.-M Chang, J.-K. Lin: Transformation of zearalenone and zearalenol by rat erythrocytes, *Food and Chemical Toxicology*, 1984, pp. 887-891.

vegyület keletkezik mint ami az eredeti vegyület volt ezt hívjuk toxikus metabolizációnak, pl. Zearalenonból Zearalenol keletkezés.



2. ábra: Zearalenon bomlása során képződő Zearalenol és vissza alakulásai²¹

A szervezetbe megkötődött toxin emberi szervezetre gyakorolt hatása igen sokrétű. A mikotoxinnal szennyezett takarmánnyal etetett állatok fejlődése, súlygyarapodása vissza esik²², szaporodásbiológiai és állat-egészségügyi paramétereik jelentősen romlanak²³.

²¹ Zearalenon bomlástermékei <http://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0021967308004093-gr1.jpg> (Letöltés dátuma: 2012.09.20.)

²² Zearalenon <http://www.knowmycotoxins.com/hu/npig8.htm> (Letöltés dátuma: 2012.10.30)

²³ HONFI Krisztina: Gombatoxinok a malac takarmányokban <http://www.pointernet.pds.hu/ujsagok/agraragazat/2011/05/20110629170528273000000603.html> (Letöltés dátuma: 2012.10.11)

1.2 Fontosabb toxinok biológiai hatásai:

A legjelentősebb mikotoxinok az aflatoxinok, trichotecének, fumonizinek, zearalenonok, az ochratoxin A és ergot-alkaloidák. Az aflatoxinokat elsősorban az *Aspergillus flavus* és az *A. parasiticus* gomba okozza, amelyek hatása krónikus gyulladások kialakulásától, illetve a daganatképződéstől egészen a halál beálltáig terjed, a trichotecének a mikotoxinok széles családját alkotja, amelyet több gomba is termel, mint a *Fusarium* vagy a *Stachybotritis* fajok. A legnagyobb valószínűséggel előforduló trichotecén a deoxinivalenol (vomitoxin vagy DON), amely elsősorban búzánál, árpánál és kukoricánál található meg. Egy másik Európában gyakran előforduló trichotecén a T-2 toxin. A fumonizin toxint elsősorban a kukoricánál található meg és a *Fusarium verticillioides* gomba termeli. Ez a toxin jelentős betegséget tud okozni lovaknál és sertéseknél. Egereknél és patkányoknál rákképző hatásukat is kimutatták.

A zearalenon toxint elsősorban a *Fusarium graminearum* gomba termeli, sertéseknél méhszáj gyulladást okoz és ösztrogén hatással van.²⁴ A zearalenon a trichotecénekkel együtt is előfordulhat a búzánál, árpánál, zabnál, kukoricánál. Az ochratoxint elsősorban a *Penicillium verrucosum* okozza és jelentős állati betegségeket tud okoznia a sertéseknél, elsősorban vesebántalmakat. Az ergot alkaloidákat a *Claviceps* gombafaj (növényi patogén) okozza, amikor a szövetelváltozás folytán áttelelő szklerociumok képződnek. Az ergotoxikózis már középkorban is ismert betegség volt. A mikotoxinok kisebb csoportjába tartoznak azok a toxinok, amelyek eseti alapon fordulnak elő, és általában társulnak az emberi és állati mikotoxinokhoz, vagy gyakran fordulnak elő, de nem társulnak emberi és állati betegségekhez.

Az aflatoxin első lépésben aktiválja az anyagcserét, módosítja a DNS állományt, sejt deregulációt okozva, amely sejthalálhoz, ill. alapvetően megváltozott sejtfolyamatokhoz vezet (szétrobbantja a makromolekula szintézist, sejt deregulációt, majd sejthalált váltva ki). Igen erős rákkeltő.²⁵

²⁴ VÉGH Éva Kinga: *Zearalenon hőtranszformációjának vizsgálata*, 2010. pp. 9.

²⁵ J.M. Wagacha, J.W. Muthomi: *Fusarium : Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat Crop Protection*, 2007, Pp 877-885

A deoxynivalenol első lépésben a fehérjeszintézist gátolja, felborítja a citokinin szabályozást, megváltoztatja a sejt proliferációt és sejthalálhoz vezet. Igen erős immunrendszer gátló. A fumonisinek a szfingarin N-acetiltranszferáz aktivitást gátolják, a lipidszintézist blokkolják, ami sejt deregulációhoz, ill. sejthalálhoz vezet. Az Ochratoxin-A fenilalanin szintézist teszik működésképtelenné, csökken a glikoneogenezis, majd sejthalál a végállomás. Egyben fehérje és DNS szintézis gátlás is végbemegy. Különösen a vese reagál érzékenyen. A T-2 toxin ugyancsak igen erős fehérjeszintézis gátló, aktiválja az endonukleázokat és sejtpusztulást okoz. A zearalenon (F-2 toxin) elsősorban kukoricában, rizsben, búzában, árpában és a malátában képződik, főként még a betakarítás előtt, de mint raktári penész is ismeretes. A gabonaféléken főleg felületi szennyeződésként jelenik meg, a malmi feldolgozás során a korpába kerül. Gyerekekben elsősorban a gabonapelyhek és a popcorn, újszülöttekben pedig az anyatejjel kiválasztott toxin fogyasztása jelenthet veszélyt.²⁶ A zearalenon heveny mérgezést nem okoz. Rákkeltő hatása nem bizonyított.

A toxin ösztrogén hatású, ösztrogénköti receptorokkal rendelkező szervekben okoz károsodást. Hímekben gátolja a spermaképződést, melynek súlyossága arányos a bevitt mennyiséggel és a toxinhatás időtartamával, nőivarú állatokban a méh állandó ödémás állapota észlelhető. A petefészek és a méh működészavara alakul ki, a megtermékenyült pete beágyazódása akadályozott, méh eredetű meddőség alakulhat ki. Az eltérő ösztrogénköti receptoroknak, valamint a toxin eltérő metabolizmusának köszönhetően a toxinnal szembeni érzékenység fajoként jelentősen eltér. Az ember és a sertés kifejezetten érzékenyek, míg a tyúkfélék és a szarvasmarha ellenállóbbak vele szemben. Az Európai Unió Élelmiszerügyi Tudományos Bizottság (ÉTB) a zearalenonra 0,2 µg/ttkg-os ideiglenes tolerálható napi beviteli szintet állapított meg, amely egy átlagos 70 kg tömegű emberre nézve napi maximum 14 µg zearalenont jelent.²⁷ A szakirodalmak szerint szinte minden szerv működésében zavart okozhatnak a különböző mikotoxinok, és egyféle toxin több helyen is okoz egészségügyi ártalmakat. A tényleges hatás valójában függ a toxin mennyiségétől, mennyi időn át és milyen egészségi állapotú ember vagy állat szervezetébe jut.

²⁶ Donald M. Gardiner, Kemal Kazan, John M. Manners: *Nutrient profiling reveals potent inducers of trichothecene biosynthesis in Fusarium graminearum: Fungal Genetics and Biology*, 2009, Pp 604-610

²⁷ Az Európai Unió BIZOTTSÁG 856/2005/EK RENDELETE 2005 a 466/2001/EK rendeletnek a Fusarium-toxinok tekintetében történő módosításáról <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:143:0003:0008:HU:PDF> (Letöltve 2012. 10.30)

2. Élelmiszerbiztonság és nyomon követhetőség

Napjainkban az élelmiszer mennyiségi gondja kezd a háttérbe szorulni az emberek többségének az igénye egyre inkább nő a minőségi egészséges, tápláló élelmiszerek iránt. Az élelmiszerbiztonság termeléséhez nélkülözhetetlen vegyszerekkel szembeni fenntartásokat és jogszabályokat és a különféle toxikózisok által előidéző egészségkárosodás megelőzésének alapjait fekteti le.

„Az élelmiszerbiztonság olyan történetileg kialakult komplex feltételrendszer, amely az élelmiszer fogyasztásra bocsájtásának és a minőség dekralálásának az alapfeltétele. A biztonság komplex feltétel rendszerét jogszabály határozza meg, amely magába foglalja mindazon szennyezettségi tényezőket, melyek az ember egészségét károsítják. A jogi szabályozás feltételrendszere nem statikus, hanem az új tudományos eredményektől függően változik, melynek alapján eldől, hogy egy adott élelmiszer forgalomba hozható-e, vagy nem, avagy ki kell vonni a forgalomból.”²⁸

A szabályozás feltételeiből a legfontosabbakat emelném ki:

- 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.²⁹

²⁸ PALLÓNÉ dr. Kisérdi Imola: A versenyképesség biztosításának új minőségi dimenziója az élelmiszergazdaságban EU csatlakozásunk szempontjából. phd.lib.unicorvinus.hu/488/1/de_1666.pdf
(Letöltés dátuma: 2012.10.30)

²⁹ Dr. KARDEVÁN Endre *Az élelmiszerbiztonsággal és a másodlagos élelmiszerellenőrzéssel kapcsolatos új szabályozás legfontosabb elemei.*
http://elelmiszerlanc.kormany.hu/download/e/ea/40000/2010_07_22_%C3%A9lelmiszerbiztons%C3%A

Az ellátási lánc minden szereplője számára napjainkban már több rendelet (178/2002/EK, 852/2004/EK) és számos független agrár- és élelmiszeripari szabvány/rendszer (EUREPGAP, HACCP, ISO 22000, ISO 22005 stb.) határozza meg az élelmiszer-biztonságra, higiéniára és nyomon követhetőségre vonatkozó minimális előírásokat.

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

§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 is³⁰

3. Mikotoxin botrányok a nagyvilágban

A 2004-es „fűszerpaprika botrány” kapta a legnagyobb visszhangot, feltehetően azért, mert külföldről érkezett bejelentés, az ügy lezárására a mai napig nem született jogerős ítélet a fellebbezések miatt.³¹

A Cerbona visszahívta a 2011. május 13. és 2011. június 18. közötti minőségmegőrzési idejű Durillo és Durum márkanevű durum száraztészta termékeit az alapanyag toxin szennyezettsége miatt.

2009-ben igen nagy port kavart az egy 5 éves kislánynak korai pubertációs ciklusa megkezdődött, mint a későbbi vizsgálatok kiderítették a bioboltban kapható gabonaféléből készült reggeliző pehelyben kialakuló fuzáriumgomba-termelte DON-toxint.(deoxynivale)³²

[lg%20%C3%A9s%20m%C3%A1sodlagos%20%C3%A9lelmiszerellen%C5%91rz%C3%A9s.pdf](#)
(Letöltés dátuma 2012.10.13)

³⁰ VÉGH Éva Kinga: Zearalenon hőtranszformációjának vizsgálata, 2010. pp. 10-11

³¹ KORBÁSZ Margit: Fűszerpaprika http://phd.lib.uni-corvinus.hu/495/3/korbasz_margit.pdf (Letöltés dátuma: 2012.10.06)

³² ZS. Zs.: Élelmiszerbiztonság... <http://barikad.hu/node/31293> (Letöltés dátuma: 2012.10.06)

2011-ben a Spar boltokban véletlenszerűen kiválasztott, nyolcféle búzaliszt közül két fajta tótkomlósi búza finomliszt szintén határérték felett tartalmazta a fuzáriumgombatermelte DON-toxin (deoxynivalenol) nevű méreganyagot. A komáromi Pannonmill búza fehérlisztjében az f2 toxin-tartalom több mint 300 százalékkal haladta meg a határértéket.

Ugyanekkor pékáruk között az Auchanban határérték feletti mennyiségben talált DON-toxinnal szennyezett tökmagos stanglit. Az Auchan és a Lipóti Pékség zsemléjének, illetve a Lipóti Pékség Kornspitzének rendszeres fogyasztása azok DON-toxin-tartalma miatt csecsemők és kisgyerekek számára veszélyes.

2011 márciusban riasztást adott ki az Európai Unió élelmiszer-biztonsági információs rendszere, az RASFF, méghozzá a német szakhatóság bejelentésére - emlékeztet a lap. Egy ottani forgalmazónál a magyar Eredeti Ziegler Ostya Gyártó Kft. sajtos tallérjában találtak az egészségügyi határértéket meghaladó DON-toxint.

A DON toxinos magyar durumtészta miatt 2009 júniusában riadóztak; az ugyanilyen méreganyagot tartalmazó, feldolgozatlan magyar búza miatt 2008 márciusában figyelmeztette a RASFF az uniós tagokat, s a négy hónappal azelőtt elcsípett szlovák popcornban is a DON toxinos magyar alapanyag volt a ludas.³³

³³ NOL.HU: *Mérgezett liszt a Sparban* http://nol.hu/gazdasag/mergezett_liszt_a_sparban (Letöltés ideje 2012.10.10.)

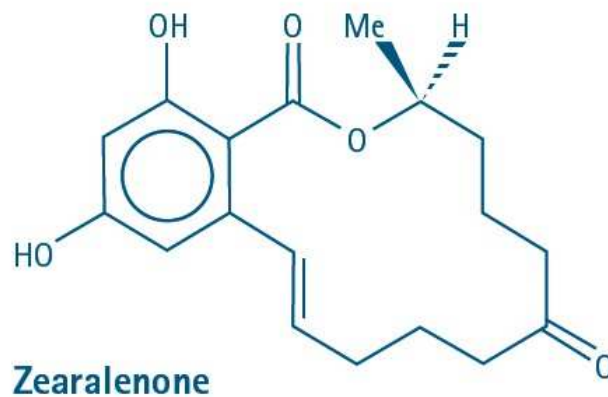
Biológiai eredetű szennyező anyagok élelmiszerekben megengedhető mértéke, mikotoxinok maximális szintje élelmiszerekben.

Élelmiszer	Mikotoxin	Határérték (ppb)
Földimogyoró, dió, mandula, gesztenye, szárított gyümölcs	Aflatoxin B1	2
	Összes aflatoxin	4
Dió, mogyoró, mandula, gesztenye, szárított gyümölcs (felhasználás előtt válogatás)	Aflatoxin B1	5
	Összes aflatoxin	10
Gabonafélék és gabona őrlemények	Aflatoxin B1	2
	Összes aflatoxin	4
Tej és tejtermékek	Aflatoxin M1	0,05
Nyers kávé	Ochratoxin A	15
Pörkölt kávé, őrölt kávé		5
Istant kávé		10
Bor, szőlőmust alapú italok	Ochratoxin A	2
Szőlőlé		2
Lisztek, őrlemények	Deoxinivalenol	1200
	Zearalenon	100
	T-2 toxin	300
Gyümölcs és zöldségkészítmények	Patulin	50

3. Táblázat: Toxin megengedett értékei adott élelmiszerekben³⁴

³⁴ *Biológiai eredetű szennyező anyagok élelmiszerekben megengedhető mértéke, mikotoxinok maximális szintje élelmiszerekben (7/1999. (VI. 16.) EüM rendeletének 4. számú melléklete szerint, módosítva a 9/2003 EszCsM rendelet által)*

4. Zearalenon



4.kép: Zearalenon konstitúciós képlete³⁵

Több tucat veszélyes toxin közül a Zearalenon került kiválasztásra mivel rendkívül sok módon bejuthat az élő szervezetbe, és hatásai rendkívül veszélyesek. A giberrela és a Fusarium nemzetséghez tartozó penészek termelik ezt a mikotoxint.³⁶ Ezek a Fusarium culmorum, Fusarium graminearum, Fusarium avenaceum, Fusarium equiseti, Fusarium lateritium. Nevét a kukorica latin nevéből kapta, mert legelőször kukoricában találták meg mint később kiderült búzában rizsben malátában árpában, penészes szénában is rendkívül gyakori.³⁷

Másnevezései:

- ZEA
- ZON
- F2-Toxin
- (3*S*,11*E*)-14,16-Dihydroxy-3-methyl-7-oxo- benzoxacyclotetradec-11-en-1-on

³⁵ ENGORMIX: Zearalenon képlete: http://en.engormix.com/images/e_articles/1635_120.jpg (Letöltés dátuma: 2012.10.21)

³⁶ KNOWNMYCOTOXINS: Zearalenon tulajdonságai <http://www.knowmycotoxins.com/hu/ndairy10.htm> (Letöltés dátuma: 2012.10.20.)

³⁷ WIKIPEDIA: Zearalenon <http://de.wikipedia.org/wiki/Zearalenon> (Letöltés dátuma: 2012.10.20.)

4.1 Képződésének feltétel

Az optimális hőmérséklet kb. 10°C –on keletkezik. Megfelelő tápanyag ellátottság, nedvességtartalom és relatív páratartalom ami kisebb 70% -nál kb 4-8ph körüli érték. Ezek a feltételek legalkalmasabbak kései betakarításnál hidegebb őszyön szállításkor és tárolási műveletek során is jelen vannak. A növények növekedési időszak alatti, különösen virágzáskori időjárás viszonyok befolyásolják legjobban a fusariumtoxin-tartalmat. Amint látni lehet ezeket egy kis oda figyelemmel megfelelő mezőgazdasági gyakorlattal és a kockázati tényezők minimálisra csökkentésével a Fusarium gombák szennyezése egy bizonyos fokig megelőzhető.

A gabonákban és gabonakészítményekben a fusariumtoxin (zearalenon, fumonizinek, trichotecének) szennyezés megelőzéséről és csökkentéséről szóló 2006/583/EK bizottsági ajánlás a védekezés általános elveit tartalmazza.³⁸ A Zearalenon fehér kristályos anyag, kémiai tulajdonságai között legfontosabb hogy szerves oldószerekben oldódik jól pl. acetonitril, metanol, diklór-metán stb. Oldhatósága kb 0,002g/100cm³ vízben. Termikusan és kémiailag is stabil olvadás és forráspontja jóval 200°C fölötti. UV tartományban 360nm-nél kék-zöld fluoresszenciát mutat, 260nm-nél erős zöld fluoresszenciát mutat. A zearalenon egy erős ösztrogén metabolit, akár a bőrön keresztül is fel szívódhat.

4.2 Biológiai hatás

A zearalenon az ember és a háziállatok szervezetében többféle biológiai hatással rendelkezik, de az érzékenység fajoként jelentősen eltér. Az ember és a sertés kifejezetten érzékenyek, míg a tyúkfélék és a szarvasmarha ellenállóbbak vele.

A zearalenon heveny mérgezést nem okoz. Biológiai hatások közül legfontosabb az ösztrogénekével megegyező (17- bétaösztradiol, ösztron, és ösztriol) megegyező hatás. A zearalenon és ösztrogén receptorokhoz kötődve fejtik ki hatásukat. Zearalenon receptorról rendelkező sejtek az endotermiumban, a petefészekben, a tejmirigyben, a hypothalamusban, illetve a hipofízis elülső lebenyében vannak, de fellelhetők a májban is.³⁹

³⁸ Röviden a toxinokról <http://www.knowmycotoxins.com/hu/npig8.htm> (Letöltés dátuma: 2012.10.20.)
Ösztrogén <http://en.wikipedia.org/wiki/Estrogenic> (Letöltés dátuma: 2012.10.20.)

³⁹ VÉGH Éva Kinga: *Zearalenon hőtranszformációjának vizsgálata*, 2010. pp. 18

Hímekben gátolja a spermaképződést, melynek súlyossága arányos a bevitt mennyiséggel és a toxinhatás időtartamával, nőivarú állatokban a méh állandó ödémás állapota észlelhető. A petefészek és a méh működészavara alakul ki, a megtermékenyült pete beágyazódása akadályozott, méh eredetű meddőség alakulhat ki. Újabban feltételezik, hogy a zearalenon ösztrogén depedens szövetekben szövetszaporodást, illetve karcinogenezist indíthat meg⁴⁰. Kísérleti adatok arra is utalnak, hogy ha a terhesség idején az anyai szervezetet jelentősebb ösztrogén hatás éri, a leány utódokban fokozódik az emlőrák kialakulásának veszélye.

A zearalenon genotoxikus és mutagén hatását az elmúlt évtizedben bizonyították, de a hatás-mechanizmus ma még nem ismert minden részletében. *Bacillus subtilis*-szel végzett rekombinációs kísérletekben, illetve egér májsejtekkel végzett vizsgálatokkal bizonyították a zearalenon DNSkárosító hatását. A genomjaikban lambda-bakteriofágot hordozó lysogen baktériumokban a zearalenon már 1,5 mmól koncentrációban is genotoxikusnak bizonyult.⁴¹ A szennyezett árucikk főleg gabonafélékből malmi feldolgozás alatt alapvető élelmiszerekbe kerül, így az egész árút megszennyezi. Gyerekek elsősorban a gabonapelyhek, péksütemények, popcorn, újszülöttekben pedig az anyatejjel kiválasztott toxin fogyasztása jelenthet legfőbb veszélforrást.

4.3 Határértékek:

Termék	Mikotoxin	Felsőhatárérték(µg/kg)
Feldolgozatlan gabonafélék	Zearalenon	100
Feldolgozatlan kukorica	Zearalenon	2000
Kenyér	Zearalenon	200

4. táblázat: Zearalenon tolerálható napi maximum értékei⁴²

⁴⁰ VÉGH Éva Kinga: *Zearalenon hőtranszformációjának vizsgálata*, 2010. pp. 16

⁴¹ Dr. TORNYOS Gábor: *A fumonzin B1 okozta elváltozások vizsgálata a dózis és az expozíciók IDI függvényében sertésben*. [http://phd.ke.hu/fajlok/1236609226-TornyosGdisszertacio\(1\).pdf](http://phd.ke.hu/fajlok/1236609226-TornyosGdisszertacio(1).pdf) (Letöltés időpontja: 2012.11.01)

⁴² Az Európai Unió Élelmiszerügyi Tudományos Bizottság (ÉTB) a zearalenonra 0,2 µg/ttkg-os ideiglenes tolerálható napi beviteli szintet állapított meg.

Az Európai Unió országaiban a takarmányok zearalenon tartalmára nézve nem határoztak meg határértéket, arra vonatkozóan csak ajánlati szintek állnak rendelkezésre. Hazánkban az egyes állatfajokra és korcsoportokra nézve az alábbi javaslati értékeket. (5. táblázat) javasolták(MTA,2003):

Állatfaj/korcsoport	Depresszív toxin tartalom mg/kg	Toxikus toxin tartalom mg/kg
Szarvasmarha	0,15	0,30
Borjú (preruminiális kor)	0,25	n.a.
Tenyézsértés (adult)	0,15	0,25
Tenyézsértés (pubertás)	0,05	n.a.
Növendék és hízósértés	0,20	0,40
Baromfi (brojler)	0,50	n.a.
Baromfi tojó (tyúkféle)	0,50	n.a.
Tojó (lúd, kacs, pulyka)	0,20	n.a.

5. táblázat: Zea határértékek (n.a.= nincs adat)⁴³

⁴³ Az egyes állatfajokkal és korcsoportokkal etetett takarmánykeverékek Zearalenon tartalmának határértéke

5. A patulin

5.1 Fizikai és kémiai tulajdonsága



5.kép: Egy rothadó alma⁴⁴

A patulin fehér kristályos anyag olvadáspontja 110 Celsius fok körüli. Vízben alkoholban metilalkoholban jól oldódik. Gombák, különösen az *Aspergillus* és *Penicillium* által termelt toxin. Megtalálható a rothadó almában is.⁴⁵

5.2 Biológiai hatása

Genotoxikus anyag, amiből egy olyan elmélet született, hogy karcinogén. Az állatkísérletek eredménye azonban még nem egyértelmű. Ez a poliketid lakton szinte bármely gyümölcsön amelyeken rothadás, vagy gombaképződés látható valószínűleg patulint tartalmaznak. Már akkor is a legnagyobb kockázattal kell számolni, amikor rothadt, beteg gyümölcsöt használnak fel gyümölcslé és egyéb feldolgozott termékek gyártásához. Patulin fertőzöttséget jelentettek már zöldségek, gabonák és szilázsok esetében is. A patulint nem soroljuk a különösen veszélyes mikotoxinok közé.⁴⁶

⁴⁴ Alma: http://www.keresomarketing.hu/sites/default/files/rothadt_alma.jpg (Letöltés dátuma: 2012.10.09.)

⁴⁵ WIKIPEDIA:Patulin: <http://hu.wikipedia.org/wiki/Patulin> (Letöltés dátuma: 2012.10.29.)

⁴⁶ KNOWNMYCOTOXINS: Patulin vizsgálata: <http://www.knowmycotoxins.com/hu/ndairy12.htm> (Letöltés dátuma: 2012.09.29.)

A *Penicillium expansum* gomba tehető felelőssé a legtöbb esetben az almalevek patulin fertőzöttségért. Mivel hatékonyságát nem bizonyították be és a toxicitásnak fényben az orvosi alkalmazásba nem került be, mert irritálja a gyomrot, émelygést és hányást okoz. A patulin mérgezés tüneteit a szarvasmarháknál az emésztő rendszerben kialakult vérzések adják. 1954-ben Japánban 100 szarvasmarha pusztulását okozta patulin mérgezés, amely takarmány eredetű volt. A patulin patkányokra megadott LD50 szintje 15mg/kg testtömeg és 25 mg/kg szubkutáns injekcióként.

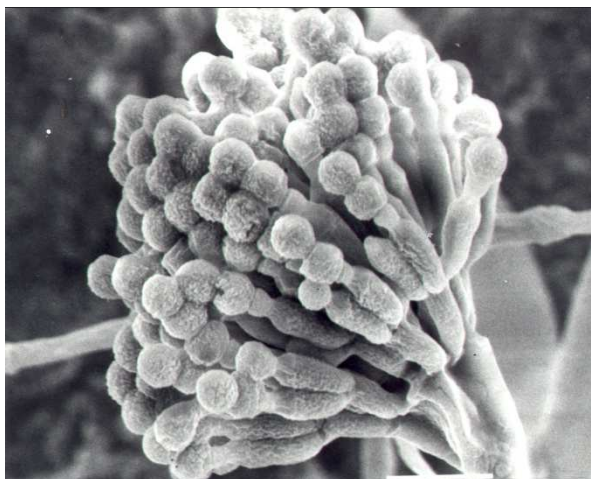
A halál oka általában tüdő ödéma volt. Hosszú időtartamú kísérletek során, ahol alacsonyabb dózist használtak, ezek a hatások nem jelentek meg. A patulinról bebizonyosodott, hogy neurotoxikus és immunotoxikus hatása is van. Számos kutatás támasztja alá a patulin genotoxikus hatását, azaz károsítja a DNS-t és a kromoszómákat.⁴⁷ Ezeket a kutatásokat baktériumokon és emlős sejteken végezték és az alkalmazott dózisok nincsenek összhangban az emberre megállapított kitettségi szintekkel.⁴⁸

⁴⁷ FOODSAFETYWATCH:Patulinról általában: <http://www.foodsafetywatch.com/public/506.cfm> (Letöltés dátuma: 2012.10.01.)

⁴⁸ ORANGEPIPPIN: Patulin <http://www.orangeippin.com/resources/general/patulin> (Letöltés dátuma: 2012.10.14.)

6. Aflatoxinok (B1)

Az aflatoxinokat az aspergillus penészgombák (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* és *Aspergillus parasiticus*) termelik. Fontosabb, a természetben előforduló aflatoxinok: aflatoxin B1 (ASIB1, CAS No: 1162-65-8); aflatoxin B2 (Af1B2, CAS No: 7220-81-7); aflatoxin G1 (AflG1, CAS No: 1165-39-5); aflatoxin G2 (AflG2, CAS No: 7241-98-7) és aflatoxin M1, (AflM1 CAS No: 6795-23-9).



6. kép: Aspergillus mikroszkópikus képe.⁴⁹

Jelenleg számunkra csak a B1-es aflatoxin érdekelt. Kémiaailag benzinprén típusú szerkezeti elemet tartalmazó, többszörösen konjugált, policiklusos vegyület. Metanolban, acetonban, klorofomban jól oldódnak, vízben kevésbé.⁵⁰

A B1-es azért került kiválasztásra mert leghatékonyabb és élelmiszerszennyezőként legáltalánosabban előforduló toxin, természetes előfordulásával nem kell számolni, élelmiszerszennyezőként importcikkeken lelhetők fel. Leggyakrabban a földimogyorón találjuk meg, de előfordul más élelmiszerekben (pl. szója, rizs, köles, kukorica, zab, bab, kávé - a paprika) és takarmányfélésegeken is. Számos afrikai, ázsiai és Dél-Amerikai országban természetesen van jelen, de pl. az Amerikai Egyesült Államok délkeleti részének egy területén is a napi átlagos aflatoxin B1 fogyasztás eléri a 13-197 ng/testsúly kg-t.

⁴⁹ Aspergillus: <http://public.gettysburg.edu/~rcavalié/em/asp2.jpg>

⁵⁰ Egészségügyi minisztérium: Amit az aflatoxinokról érdemes tudni: <http://www.eum.hu/archivum/jo-tudni/amit-aflatoxinrol> (Letöltés dátuma: 2012.11.01)

Heveny mérgezést csak nagy dózisok (mg-s nagyságrend) fogyasztása esetén idéz elő, (közepes halálos dózisuk, ún. LD50 értékük: 0,5-60 mg/testsúly kg elérő mennyisége között változik, függően az alkalmazott állatfajtól).

A Föld egyes - fentebb említett - régióiban járványszerűen fordulnak elő aflatoxin okozta heveny/félheveny májgyulladások; Indiában 2-6 mg/testsúly kg/nap dózisban egy hónap után idézett elő aflatoxin toxikus májgyulladást. Nagyon súlyos esetekben ez kiterjedt májelhalással jár együtt, vagy átmehet májcirrhotisba, időnként pedig a májkárosodáshoz agyvelőkárosodás társulhat; gyermekekben az ún. Reye-szindrómához (parainfekciózus encephalopathia - fertőzéshez társuló agyvelőkárosodás) hasonló megbetegedés alakulhat ki. Heveny aflatoxin mérkezésben leírtak tüdőadenomatosist is.⁵¹

Az aflatoxinok legveszélyesebb, kis dózisokhoz kötött, hatása génkárosító és rákkeltő hatása. In vitro emberi sejtekben a B1-es toxin klasztogének és mutagének, kovalensen kötődnek a DNS-hez (IARC, 1993; Mace és mtsai, 1997). Géntoxikus hatásukat élelmiszerekben a szokásos csírátlanító (dekontamináló, sterilizáló) kezelések után is megőrzik (Hoogenboom és mtsai, 2001). Metabolizációjuk (lebomlásuk) során az aflatoxinokból reaktív, epoxi vegyületek keletkeznek, amelyek ún. végső karcinogének; elsősorban ezek felelősek májrákot okozó hatásukért (IARC, 1993, Smela és mtsai, 2002)

52

Fontos azonban tudnunk az aflatoxinok géntoxikus, daganatkeltő hatásuk kifejtéséhez metabolikus átalakításra szorulnak, és ez elsősorban az ún. oxidatív stresszen alapuló DNS törésekre vezethető vissza, antioxidánsok (pl. flavonoidok) adásával vagy minden "zöldszínű zöltség" (brokkoli, spenót, sóska, saláta), gyümölcsök, teafélék fogyasztásával, vagy fokozott citokróm enzim aktivitással mutagén-karcinogén hatásuk csökkenthető.

⁵¹ ANTSZ:

https://www.antsz.hu/felso_menu/lakossagi_tajekoztatasi_kozegeszsegugy/archivum/2005/data/aflatoxin.html?query=aflatoxin

⁵² ANTSZ: Fűszerpaprikabotrány

https://www.antsz.hu/felso_menu/lakossagi_tajekoztatasi_kozegeszsegugy/archivum/2005/data/szennyezettpaprika.html?query=aflatoxin

7. A kísérlethez alkalmazott eszközök és metódusok alapjai

7.1 Elválasztás technika

Folyadék kromatográfia alapja az hogy a minta komponenseit – legtöbbször szerves vegyületeket – egyástól elválassza. A módszer működésének az alapja az, hogy a mozgófázisba (amely lehet gáz vagy folyadék) kevert mintaelegyet szoros kontaktusba hozzuk egy azzal nem elegyedő másik fázissal, amelyet állófázisnak hívunk (egy lapra felvitt, vagy cső belsejében rögzített folyadék vagy szilárd halmazállapotú anyag).

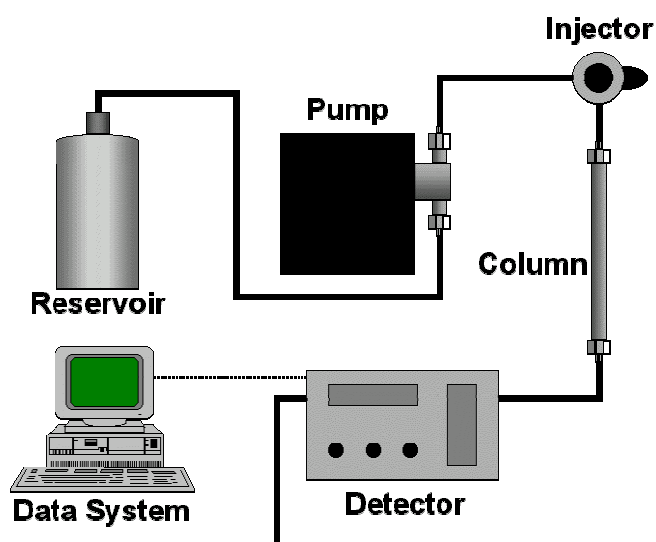
A mozgófázist (eluens) állandóan mozgásban tartva a mintaelegy komponensei az állófázissal való kölcsönhatásuk különböző mértéke miatt megfelelő kontaktidő után elkülönülnek egymástól. Amennyiben a rendszerben egy detektort helyezünk el amely a minta komponenseket képes megkülönböztetni a minta oldószerétől (pl. képzeljünk el egy vezetőképességi detektort annak a csőnek a kifolyó végére szerelve, amely az állófázist magába foglalja), akkor a detektor jel idő függvényében való ábrázolásakor a mintakomponenseket reprezentáló csúcssorozatot fogunk észlelni.

Ezt a grafikont hívjuk kromatogramnak a berendezést meg kromatográfának. A kromatográfiás módszereknek is rendkívül sokféle változata alakult ki, mindegyik sok féle szempont szerint csoportosítható. A kromatográfiás módszernek nagy előnye, hogy a mérési körülmények alkalmas megválasztásával ezek a módszerek az elválasztandó komponensek igen széles körére alkalmazhatóak. Megfelelően érzékeny detektor alkalmazásával akár nyomnyi mennyiségű szerves vegyületek jelenléte is kimutatható vagy azok mennyisége meghatározható. A kromatogramról leolvasható legfontosabb adat az egyes kromatográfiás csúcshoz tartozó retenciós idő, amely a mintának a mozgófázisba juttatásától a komponens detektor által mért maximális koncentrációjának a megjelenéséig eltelt idő.⁵³

⁵³ PTE: Folyadék kromatográfia (HPLC) <http://ttk.pte.hu/analitika/letoltesek/jegyzet/ch07s03.html>
(Letöltés dátuma: 2012.11.01)

A retenció minden komponensre más és más így a komponens anyagi minőségével függ össze. A kromatográfiás módszerek jellemzésére egyik leggyakrabban használt paraméter az elméleti tányérszám. Ami számomra érdekes az a kromatogramban található információk minőségi analízisre is használható. A legegyszerűbb módszer egy adott kromatográfiás rendszeren mért redukált retenciók összevetése ugyan azon a rendszeren mért ismert anyagok redukált retenciók időivel.

A kromatográfiás mennyiségi analízis alapja a csúcsok területének arányossága a koncentrációval. Ismert koncentrációjú mintasorozat mérésével kalibrálva vagyis a kalibrációs görbe felvétele után az ismeretlen koncentrációja a görbéről visszaolvasva meghatározható. A csúcsterületek meghatározásához régen vonalzóval manuálisan történt, ma azonban szinte kizárólag elektronikus integrátorokkal illetve számítógépes programokkal történik. A folyadék kromatográfia ma elterjedten alkalmazott változata a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (High Performance Liquid Chromatography, HPLC).



6.Kép: A HPLC szerkezeti rajza⁵⁴

A HPLC technika nagy hatékonyságú és relatíve igen gyors analíziseket tesz lehetővé: akár egy tucatnyi komponens is elválasztható egy perc alatt. A hatékonyság növelését a speciális megosztófázisok alkalmazása mellett igen apró szemcseméretű töltetek készítésével érték el. Az apró töltet szemek anionban igen tömören helyezkednek el a kolonnában ami jelentősen megnöveli annak áramlási ellenállását. Ennek következtében

⁵⁴LCRESOURCES: HPLC szerkezeti rajza:

<http://www.lcresources.com/resources/getstart/generic%20HPLC.gif> (Letöltés dátuma: 2012.11.02)

a mozgófázis áramoltatása csak nagy nyomással, különleges szerkezeti anyagokból készülő és kémiai ellenálló, költséges dugattyús folyadékpumpákkal lehetséges. A nagy nyomáson való működés további követelményeket támaszt a felhasznált folyadékokkal és a minta adagolóval szemben is.

Az eluens és a minta sem oldott gázokat sem apró szemcsés szennyeződések nem tartalmazhat az előbbiek a detektorban felszavadulva a jel pulzálását idézhetik elő míg az utóbbiak a töltésszemcsék közötti, mikrométernél kisebb járatokat eltömítik. A HPLC kolonnák többnyire 1-4mm belső átmérőjűek, 10-30cm hosszúságú acélcsövek amelynek töltete apró szemcséjű porózus hordozóból és annak felületén kötött megosztó folyadékokból áll.

Az elválasztás annyi idő alatt történik meg amíg a komponensek az oszlopban tartózkodnak. Az oszlopot elhagyva az egyes mintamolekulák vagy ionok a detektorba jutnak amik azok koncentrációjával arányos elektromos jelet továbbít az adat gyűjtő egység felé. A detektor által szolgáltatott jelet az idő függvényében ábrázolva kapjuk a kromatogramot mely a minta összetételére vonatkozó minőségi és mennyiségi információkat egyaránt tartalmazza. A HPLC detektorai működési elvben különböznek egymástól így más fizikai vagy kémiai paraméter változásra mutatnak jelet.⁵⁵

⁵⁵ *LCRESOURCES:HPLC* <http://www.lcresources.com/resources/getstart/1c01.htm> (Letöltés dátuma: 2012.11.01.)

7.2 Koncentráálás, töményítés

Töményítés atmoszférikus vagy csökkentett nyomáson rotációs bepárlóban



6.kép: Rotadeszt⁵⁶

Az oldószer egy részének eltávolítása azzal a céllal, hogy a visszamaradó oldatban az oldott anyagok koncentrációja megnövekedjen és a mennyisége lecsökkenjen.

Edényben lévő minták csökkentett nyomáson történő bepárlására fejlesztették ki a centrifugális bepárlót, amely a forgó mintára ható nagy centripetális erővel megakadályozza a minta fröcskölő forrását, és így nagy bepárlási sebességet tesz lehetővé.

7.3 Kioldást segítő gép



7. kép: Rotációs rázógép

⁵⁶ SENSELEKTRO:Rotadeszt http://senselektro.hu/images/stories/ikadeszt/rv10_digi.jpg (Letöltés dátuma: 2012.11.02.)

Itt a fő hangsúly az extrakción van a szilárd anyagot oldószerrel extraháljuk és így a belőle kioldható anyagok az oldatba lesznek megtalálhatók. A rotációs rázógép nagyban megkönnyíti a munkát mivel, az elegyen lévő kioldásra váró termékekből könnyedén, és majdhogy nem maradéktalanul ki lehet oldani a toxint.

8. Kísérleti rész:

A kísérlet alapjául szolgáló BL-55 –ös búzafinomliszt szerepel ami rendkívül gyakori fogyasztásnak örvend az emberek életében. Legyakrabban kenyér-, illetve lepényféléket készítenek belőle. Természetesen a pékárúk elengedhetetlen alapanyaga. A liszt tisztaságát vizsgálat során ellenőriztem.

Azért esett az ammónium-hidrogén-karbonát térfogatnövelőre a választás mert ezt a kísérlet sorozatot megelőző kísérletek folytak különböző térfogatnövelő szerekre és ez a térfogat növelő szer bizonyosodott a leghatásosabbnak.



8.kép: BL-55 Búzafinom liszt és szalalkáli térfogatnövelőszer

A kísérletemmel azt ellenőrzöm hogy a szalalkáli térfogatnövelő szer mennyire bontja a mikotoxint. Az elemzéshez használt technika a HPLC-UV technika volt. A zearalenon toxint a mintában található többi komponenstől a folyadék kromatográfia mint elválasztási technika segítségével különítettem el, majd detektálásra UV detektort használtam. A minta azonosítása retenciós idő alapján Zearalenon standard segítségével történt, mennyiségeknek meghatározása a különböző mennyiségben rárakott mikotoxin csúcsterületek segítségével felvett kalibrációs egyenesből történt.

9. Vizsgálati model (Zearalenon, Aflatoxin B1 és Patulin):

A modellhez sült tészta receptje:

45g BL-55

30ml víz

2g Szalalkáli

0,2 g NaCl

1,00g Szacharóz (étkezési cukor)

1.lépés: Tészta készítése

A recept alapján elkészítettem a tésztát és az elkészített tészta elosztottam.

2. lépés: Szennyezés

Különböző mennyiségű mikotoxinnal szennyezem a mintát
Szennyezés: A tésztát különböző méretű pogácsákra formáztam és ezeket a pogácsára pipettával eloszlatam a toxint tartalmazó folyadékot, majd megvártam míg az oldószer elpárolog. (A toxin ilyen módú anyagra juttatására azért volt szükség, mert a tészta teljes térfogatában nem lehetett volna megoldani a szennyezést pontosan a fellépő kontaminációk illetve a tészta gyúrása során előforduló toxin veszteség miatt).

3. lépés: Sütés

180 °C –on 20 percig ment a sütés Indesit márkájú sütővel, légkeverés alkalmazása mellett.

4.lépés: Extrakció

Exrtakció: A kisütött minta homogenizálása, lemérése. Hozzáadva mindegyik mintához 40ml acetont. Majd rázógép segítségével (Edmund Bühler KS-15A) 30 percig extraháltam. Az extrakció után az acetont fázist szeparáltam a szilárd fázistól, általánosan 32-36 ml nyertem vissza a acetont.

5.lépés:Rotációs bepárlás és visszaoldás:

Az oldószer eltávolítása azzal a céllal, hogy a visszamaradó oldatban a nem megkötődött/degradálódott zearalenon mennyiségét mérni tudjuk. 1ml Acetonitrillel való visszaoldás a méréshez.



9.kép: Mintatartó edények feliratozva

6.lépés:Kromatográfiás mérés: HPLC-UV technika

- Típus:Merck HITACHI HPLC
 - UV Detektor:L-7400
 - Pumpa:L-7100
 - Autosampler:L-7200
 - Kolonnatér:L-7360
 - Mérési paraméter: Komatográfiás osztlop típusa: Resteck Pinnacle DB C-18 (250 mm x 4,6xmm x 5µm)
 - Eluens:Acetonitril
 - áramlási sebesség: 0,5ml/perc
- Detektálás
- Zea: 236 nm
- Patulin:276 nm
- Aflatoxin B1:312 nm
- Injektált mennyiség 10 µl

10.MÉRÉSI ADATOK

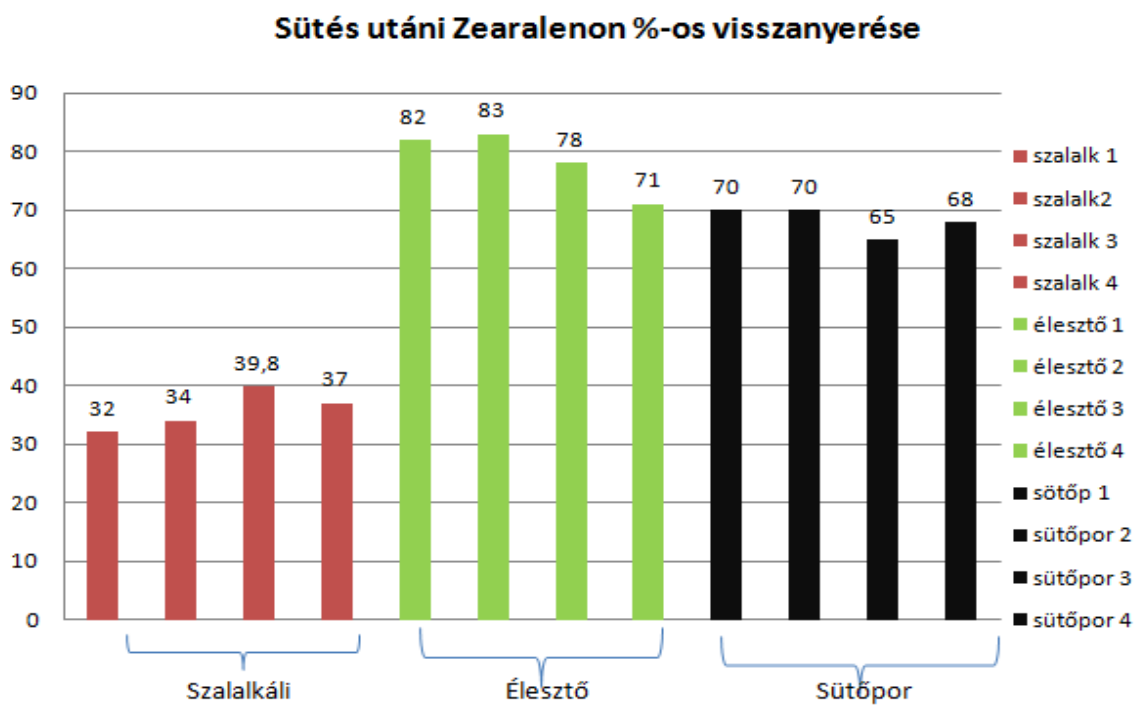
10.1 Visszanyerési tesztek:

A vizsgált toxinok visszanyerésének megállapítása céljából a kísérletek előtt visszanyerési tesztek végeztem. A visszanyerési tesztek során a kisütött termékre tettem mintánként 1,00 µg és 5,00 µg mennyiségű toxint, majd megvártam, míg az oldószer elpárolog róla. Az oldószer elpárolgása után a mintákat extraháltam acetonitril segítségével az extrakciós lépésben leírtak szerint. A mérési eredményeket 3 párhuzamos mérés átlagából számoltam.

Az extrakció után a toxinok visszamérhető mennyiségét elemeztem, majd kiszámolta a rátett és a visszanyert toxin arányt. A következő eredményeket kaptam:

Toxin	mintára tett toxin (µg)	visszanyert toxin (µg)/(%)	
Zearalenon	1	0,9541	95,41
	5	4,8134	96,28
Aflatoxin B1	1	0,9123	91,23
	5	4,8003	96,006
Patulin	1	0,9021	90,21
	5	4,8111	96,22

A zearalenon bomlása különböző térfogatnövelő szerek vizsgálatával:

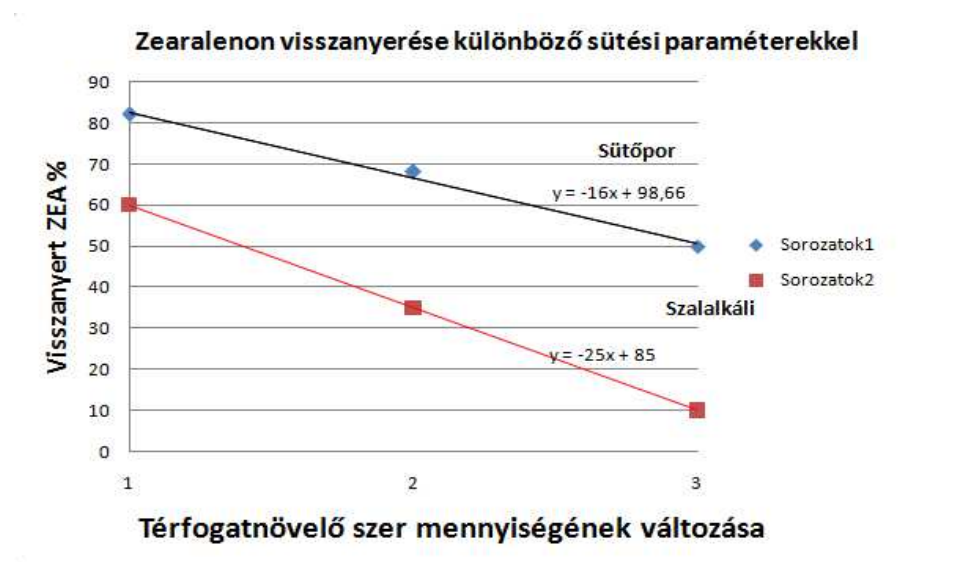


1.Diagramm: A térfogatnövelő szerek által visszanyert Zearalenon mennyiségek százalékos bemutatása

A kísérletek alapján kimondhatjuk, hogy a szalalkáli térfogatnövelő szerként történő használatával a mintában található zearalenon mennyisége csökkent a legjobban. Ennek magyarázata a szalalkáli bomlása során keletkező ammónia gáz hatásában keresendő. A gáz a sütés során a tésztában keletkező buborék gőzterében eloszlik, a buborék felszínén szilárd-gáz fázisban reakcióba léphet a toxinnal. A jelen lévő zearalenon a fizikai tulajdonságai miatt szilárd fázisban lehet. A buborék felületén az igen reaktív ammóniával érintkezve degradálódhat, új anyag jöhet létre, amely már a toxikus tulajdonságot nem mutatja. Az ammónia a sütés során a termék belsejét alkotó, gázbuborékok által kialakított vázszerkezettel és így a zearalenonnal is könnyen érintkezésbe kerül. A keletkező ammónia mennyisége számítások alapján maximum 0,0021 mól mennyiségű lehet egy mintában, amely a toxin mennyiségét figyelembe véve nagyságrendekkel nagyobb mennyiséget jelent. Az sütőpor esetében a nátrium-hidrogén-karbonát tartalma nátrium-karbonáttá alakul, amely nem gőzhalmazállapotban, hanem egy része folyadék halmazállapotban oldva fejtheti ki hatását, míg másik része a maradék nedvességben, mint vízben disszociálva már lehűlve

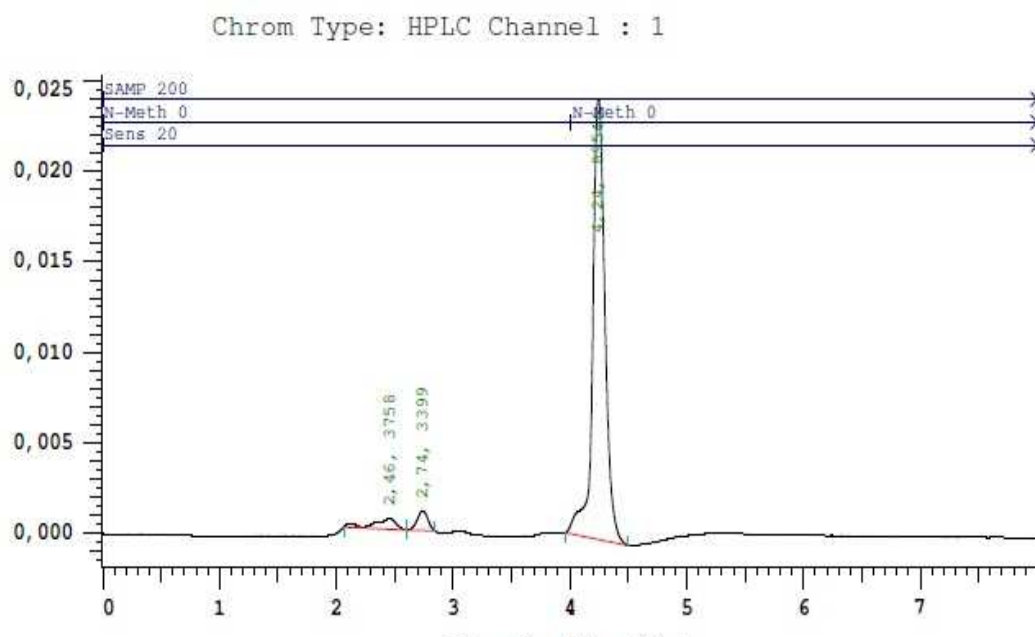
feltehetően reagálhat még a toxinnal. A mérési eredményekből megállapítható, hogy ez a folyamat nem hatékony annyira, mint a szalalkális sütés során. Az élesztővel történt sütés során a visszanyert mennyiség és az eredeti mennyiség különbsége a felületre kötődött valamint jelentősebb részben tésztában levő egyéb komponensekkel elreagált, így vissza nem nyert átalakult toxinból adódhatott. A kísérletek végén megállapítható, hogy a térfogatnövelő szerek közül a szalalkáli (ammónium-hidrogén-karbonát) okozta a legnagyobb mértékű bomlást a zearalenon mennyiségében adott paraméterek mellett.

A kontrollvizsgálatokat az ammónium-hidrogén-karbonát tartalmú és a nátrium-hidrogén-karbonáttartalmú térfogatnövelőszerekkel folytattam mivel ezeknél volt tapasztalható megfelelő mennyiségű bomlás



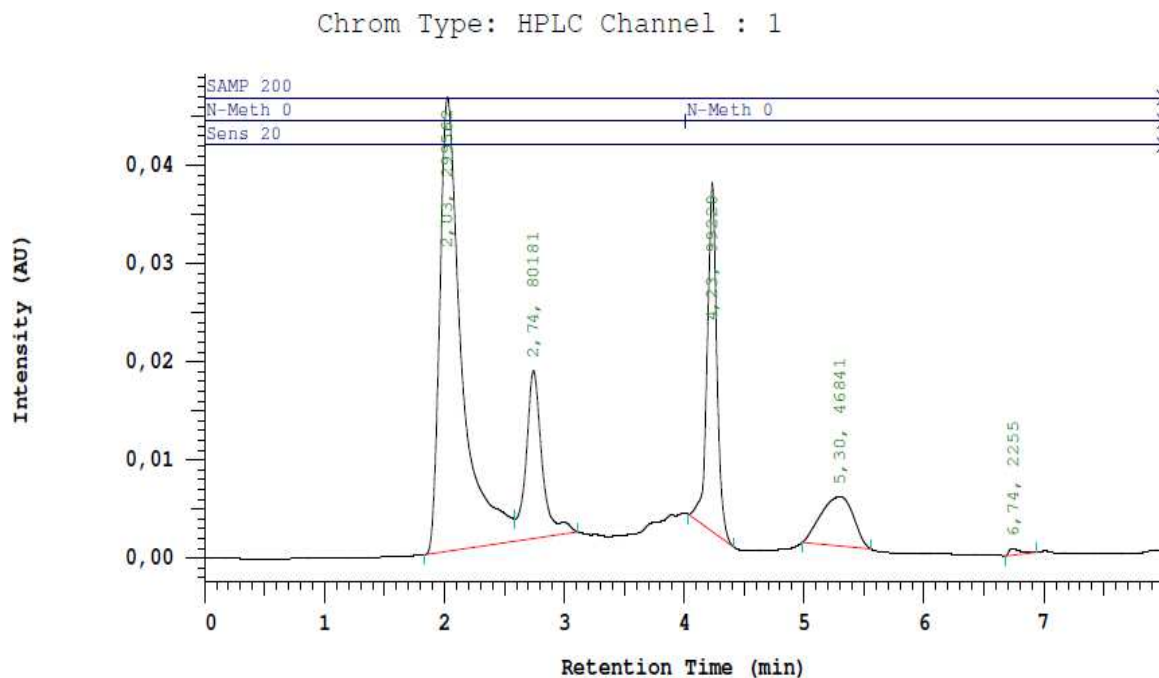
2.diagramm: A zearalenon visszanyerése a kétféle térfogatnövelő szer mennyiségének változásával

Emeltem a térfogatnövelőszer mennyiségét és figyelembe vettem a toxin visszanyerésének százalékát, és azt tapasztaltam, hogy a szalalkáli sokkal nagyobb mennyiségben bontotta a toxint, mint az sütőpor. A térfogatnövelőszerek egyenes arányban bontották a toxinokat ám a szalalkáli nagyobb mennyiségben így a szalalkálit választottam ki, és a reálisnak számított 2g os mennyiséget mivel 3 g egy ilyen recepthez túlságosan sok lett volna. A választás ez okozati tények miatt a szalalkáli térfogatnövelőszer használatát irányozták meg.



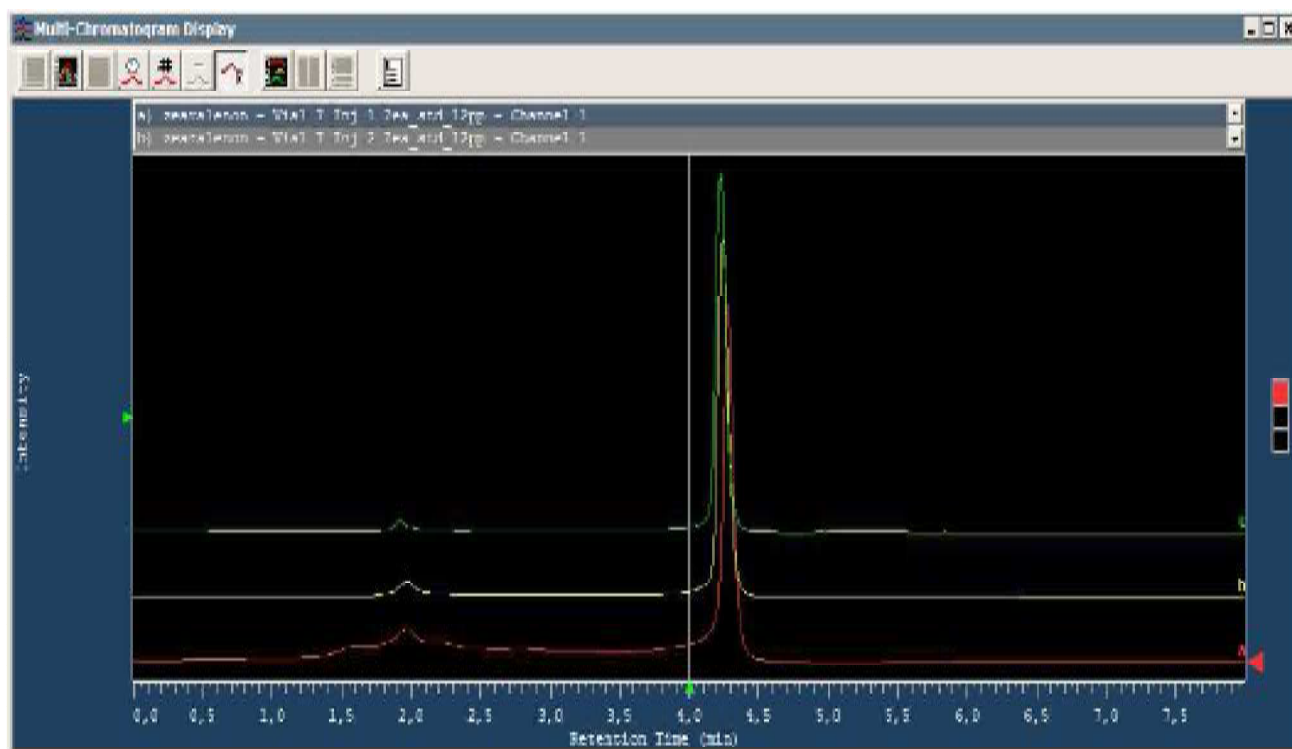
1.Kromatogramm: A zearalenon standardjának csúcsa látható

A felső, 1.Kromatogramm a Zearalenon 12ppm-es standard oldatának a kromatogrammja látható amely alapján kikövetkeztethető hogy 4,25 ös retenciós időbe jelentkezik a Zearalenon.



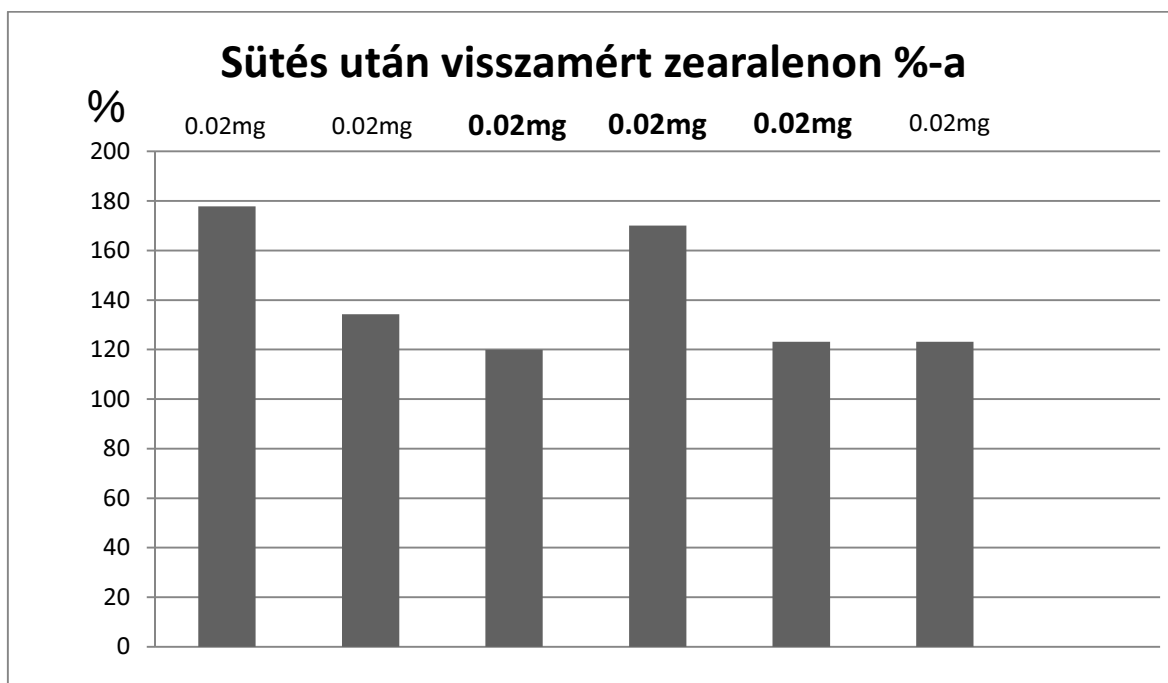
2. Kromatogramm: A sütések utáni kromatogramm 4,25nél a visszamaradt ZEA látható

A sütés után visszamért zearalenon mennyiséget ábrázoló kromatogramm ahol a 4,25-ös retenciós idő alatt láthatjuk a visszanyert mennyiséget.



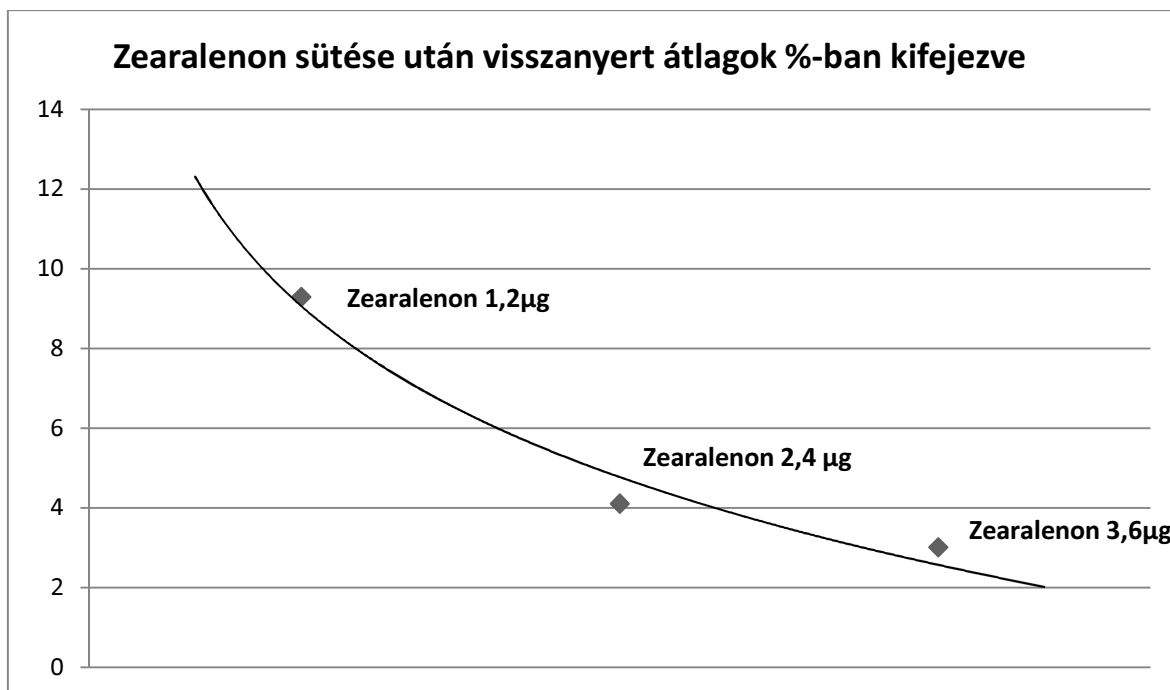
3.ábra: Zea standardok sorozata

A 3.ábrán az egymásra helyezett zearalenon standardok többszöri mérését ábrázoló kromatogramot láthatunk mindegyik mérésen rendkívül jól kiemelkedik a zearalenon csúcsa, és bizonyítja hogy a Zearalenon valóban 4,25-ös retenciós idejében jelentkezik, valamint a csúcs alatti területek azonossága is látható vizuálisan is..



3.Diagramm: A boltban vásárolt toxintartalmú lisztes vizsgálat eredményei

Az első mérés során rendkívüli furcsa módon, a boltban vásárolt liszt is Zearalenon toxin szennyezett volt (3. diagramm). A vizsgálat kielemezése alatt rendkívül feltűnő módon többet nyertem vissza, mint amennyit rátettem, ezt későbbi vizsgálataim igazolták hogy a liszt toxin szennyezése magasabb volt mint amennyi a határértékeknek megfelel.



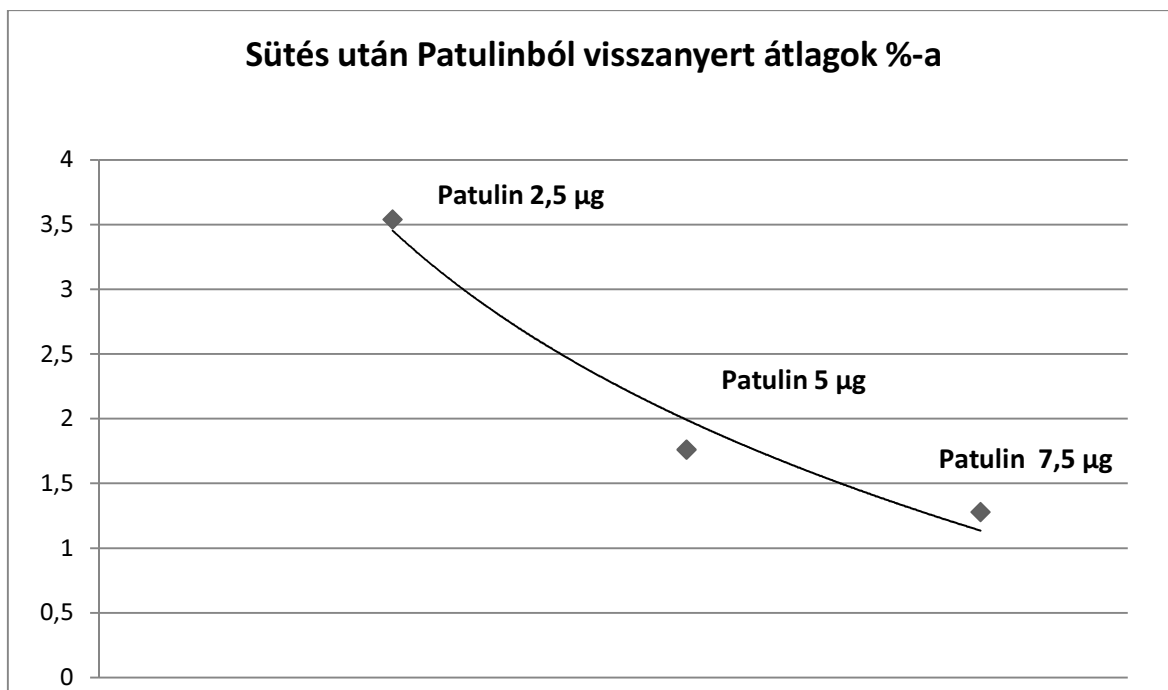
5. Diagramm: A zearalenonnal szennyezett tészták visszanyerési százalékának az átlaga.

Amint látható a fenti 5. diagrammon, az ammonium-hidrogén-karbonát tartalmú térfogatnövelőszer rendkívüli mértékben bontotta a zearalenont. Megfigyelhető még az az anomália is hogy minél nagyobb mennyiségű zearalenonnal szennyeztem annál nagyobb volt a bomlás mértéke. A sütés sorána tésztára tett toxin mennyiségének a növelésével a visszanyert toxin mennyisége fordított arányban változott.

Név	Tömeg/g	Rátett ml	visszanyert ml	Rátett toxin µl	rátett toxin µg
Za1	15,0972	50	37	100	1,2
Za2	14,1229	50	38	100	1,2
Za3	13,7547	50	39	100	1,2
Zb1	13,4533	50	36	200	2,4
Zb2	12,1403	50	37	200	2,4
Zb3	16,5555	50	35	200	2,4
Zc1	24,5078	50	35	300	3,6
Zc2	18,7463	50	36	300	3,6

6. Táblázat: A zearalenon sütés alatti lemerített mennyiségek

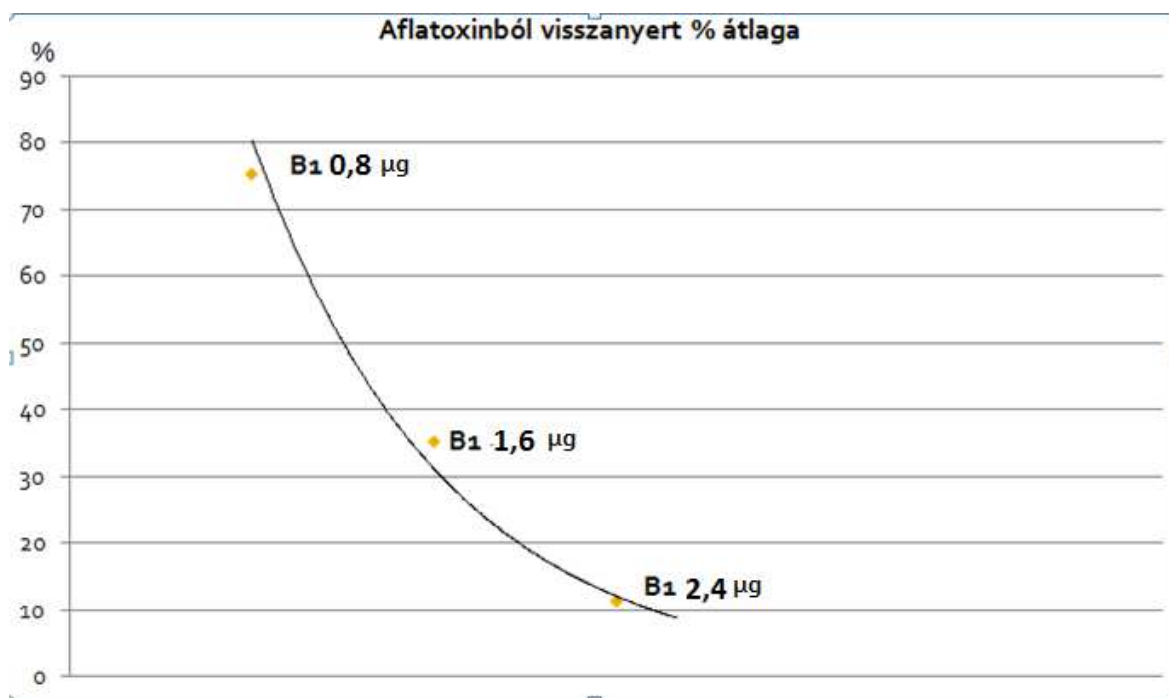
Táblázatba jól látszódik a rátett mennyiség és hogy 3x3 as mátrixba dolgoztam



6.Diagramm: A patulinnal szennyezett tészták visszanyerés százalékainak az átlaga.

A patulin hasonlóan magas bomlástartapaszta, mint zearalenon esetében. Ez részben felfogható annak is hogy a patulin olvadási pontja 120 fok körül mozog, a sütési hőmérsékleten a zearalenonnal ellentétben már nem szilárd halmazállapotú. Jól látszik itt is hogy a szalalkáli térfogatnövelő szer itt is bonthatta a mikotoxint. Igaz hogy a toxin nem a leggyakoribb elem az élelmiszerekbe és az emberre sincsen pontosan megvizsgált hatása, de az emlősökön végzett kísérletek azt mutatták hogy genotoxikus tulajdonságokat képviselt, tehát ez esetben ez előfordulhat az embereknél is.

Név	Tömeg/g	Rátett ml	visszanyert ml	Rátett toxin µl	rátett toxin µg
Pa1	24,9144	20	Nem lett rotázva	100	2,5
Pa2	21,8992	20		100	2,5
Pa3	21,1465	20		100	2,5
Pb1	21,9876	20		200	5
Pb2	22,0465	20		200	5
Pb3	21,1422	20		200	5
Pc1	23,216	20		300	7,5



7. Diagramm: Az aflatoxinnal szennyezett mintákból visszanyert százalék.

Az aflatoxin B1 bomlása is tökéletesen megfigyelhető ám itt az első esetben igen kicsi és csak a nagyobb mennyiséggel szennyezett kenyérfélék mutattak hevesebb degradációt.

Név	Tömeg/g	Rátett ml	visszanyert ml	Rátett toxin µl	rátett toxin µg
B1a1	15,597	20	9	100	0,8
B1a2	19,7673	20	9	100	0,8
B1a3	11,4177	20	12	100	0,8
B1b1	21,7673	20	8	200	1,6
B1b2	16,3962	20	7	200	1,6
B1b3	17,986	20	7	200	1,6
B1c1	21,3172	20	6	300	2,4
B1c2	19,547	20	3	300	2,4
B1c3	27,5987	20	6	300	2,4

8. Táblázat: Az aflatoxin B1 kísérlet adatai

11. ÖSSZEGZÉS

A sütések során a mintára tett toxin mennyiségek jelentősen csökkentek. A csökkenések mértéke nem volt azonos minden vizsgált toxin esetében. A legangyobb mértékű csökkenést a patulin esetében mértem, míg a legkevésbé csökkent az aflatoxin B1 mennyisége ammónium-hidrogén-karbonát hatására. A Zearalenonnál a csökkenés 1,2 µg-os szennyezés esetén 9 % os volt, 3,6 µg esetén alig 3 % volt a visszanyerési százalék. Aflatoxin B1 0,8 µg-os szennyezés esetén 75% os visszanyerést tapasztaltam 2,4µg-os szennyezésnél viszont alig 10 %-os volt a visszanyert toxin százaléka. A patulinnál 2,5 µg-os szennyezés esetén a visszanyerés 3,5 %-os volt 7,5 µg-os szennyezés eseténél 1,3 % os.

A kísérlet során a felvitt toxin mennyiségének a növekedésével, a sütés után visszanyert toxinmennyiségek csökkentek, fordított arányossággal minden toxinnál, de nem azonos mértékben. Az egyik lehetséges magyarázat: autokatalitikus hatás léphetett fel, miszerint a toxin bomlása során keletkező bomlástermék visszahatva a bomlási folyamatra, segíthette a toxin bomlását megindítani, így autokatalitikus hatást fejtve ki. A másik lehetséges magyarázat, hogy az egységnyi felületre felvitt toxin aránya nagyobb volt a növelt toxinkoncentrációjú mintákban, tehát az egységnyi felületen lévő toxin több ammóniával tudott érintkezni, ennek következményeképpen a bomlás mértéke nőtt.

A sütés során a bomlási folyamat intermediér termkeinek feltérképezése céljából a későbbiekben tömegspektrometriás vizsgálatokkal elemezzük a bomlástermékek minőségét.

.

12. BIBLIOGRÁFIA

LCRESOURCES:HPLC <http://www.lcresources.com/resources/getstart/lc01.htm>
(Letöltés dátuma: 2012.11.01.)

SENSELEKTRO:Rotadeszt http://senselektro.hu/images/stories/ikadeszt/rv10_digi.jpg
(Letöltés dátuma: 2012.11.02.)

PTE: *Folyadékromatográfia* (HPLC)
<http://ttk.pte.hu/analitika/letoltesek/jegyzet/ch07s03.html> (Letöltés dátuma: 2012.11.01)
WIKIPEDIA:Patulin: <http://hu.wikipedia.org/wiki/Patulin> (Letöltés dátuma: 2012.10.29.)

KNOWNMYCOTOXINS: Patulin vizsgálata:
<http://www.knowmycotoxins.com/hu/ndairy12.htm> (Letöltés dátuma: 2012.09.29.)
FOODSAFETYWATCH:Patulinról általában:
<http://www.foodsafetywatch.com/public/506.cfm> (Letöltés dátuma: 2012.10.01.)

ORANGEPIPPIN: Patulin <http://www.orangepeppin.com/resources/general/patulin>
(Letöltés dátuma: 2012.10.14.)

Alma: http://www.keresomarketing.hu/sites/default/files/rohadt_alma.jpg (Letöltés dátuma: 2012.10.09.)

VÉGH Éva Kinga: *Zearalenon hőtranszformációjának vizsgálata*, 2010. pp. 16

Dr. TORNÝOS Gábor: *A fumonzin B1 okozta elváltozások vizsgálata a dózis és az expozíció IDI függvényében sertésben.* [http://phd.ke.hu/fajlok/1236609226-TornyosGdisszertacio\(1\).pdf](http://phd.ke.hu/fajlok/1236609226-TornyosGdisszertacio(1).pdf) (Letöltés időpontja: 2012.11.01)

Az Európai Unió Élelmiszerügyi Tudományos Bizottság (ÉTB) a zearalenonra 0,2 µg/ttkg-os ideiglenes tolerálható napi beviteli szintet állapított meg.

Röviden a toxinokról <http://www.knowmycotoxins.com/hu/npig8.htm> (Letöltés dátuma: 2012.10.20.)

Ösztrogén <http://en.wikipedia.org/wiki/Estrogenic> (Letöltés dátuma: 2012.10.20.)

ENGORMIX:Zearalenon képlete:
http://en.engormix.com/images/e_articles/1635_120.jpg (Letöltés dátuma: 2012.10.21)

¹ KNOWNMYCOTOXINS: Zearalenon tulajdonságai
<http://www.knowmycotoxins.com/hu/ndairy10.htm> (Letöltés dátuma: 2012.10.20.)

¹ WIKIPEDIA:Zearalenon <http://de.wikipedia.org/wiki/Zearalenon> (Letöltés dátuma: 2012.10.20.)

NOL.HU: *Mérgezett liszt a Sparban* http://nol.hu/gazdasag/mergezett_liszt_a_sparban (Letöltés ideje 2012.10.10.)

KORBÁSZ Margit: *Fűszerpaprika* http://phd.lib.uni-corvinus.hu/495/3/korbasz_margit.pdf (Letöltés dátuma: 2012.10.06)

ZS. Zs.: *Élelmiszerbiztonság....* <http://barikad.hu/node/31293> (Letöltés dátuma: 2012.10.06)

Dr. KARDEVÁN Endre *Az élelmiszerbiztonsággal és a másodlagos élelmiszerellenőrzéssel kapcsolatos új szabályozás legfontosabb elemei.* http://elelmiszerlanc.kormany.hu/download/e/ea/40000/2010_07_22_%C3%A9lelmiszerbiztons%C3%A1g%20%C3%A9s%20m%C3%A1sodlagos%20%C3%A9lelmiszerellen%C5%91rz%C3%A9s.pdf (Letöltés dátuma 2012.10.13)

PALLÓNÉ dr. Kisérdi Imola: *A versenyképesség biztosításának új minőségi dimenziója az élelmiszergazdaságban EU csatlakozásunk szempontjából.* phd.lib.unicorvinus.hu/488/1/de_1666.pdf (Letöltés dátuma: 2012.10.30)

Donald M. Gardiner, Kemal Kazan, John M. Manners: *Nutrient profiling reveals potent inducers of trichothecene biosynthesis in Fusarium graminearum: Fungal Genetics and Biology*, 2009, Pp 604-610

Az Európai Unió BIZOTTSÁG 856/2005/EK RENDELETE 2005 a 466/2001/EK rendeletnek a Fusarium-toxinok tekintetében történő módosításáról <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:143:0003:0008:HU:PDF> (Letöltve 2012. 10.30)

J.M. Wagacha, J.W. Muthomi: *Fusarium : Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat Crop Protection*, 2007, Pp 877-885

Zearalenon bomlástermékei <http://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0021967308004093-gr1.jpg> (Letöltés dátuma: 2012.09.20.)

HONFI Krisztina: *Gombatoxinok a malac takarmányokban* <http://www.pointernet.pds.hu/ujsagok/agraragazat/2011/05/20110629170528273000000603.html> (Letöltés dátuma: 2012.10.11)

T. MALOVRH B. Jakovac-Strajn: *Feed contaminated with Fusarium toxins alter lymphocyte proliferation and apoptosis in primiparous sows during the perinatal period Food and Chemical Toxicology*, 2010, pp. 2907-2912

W.-M Chang, J.-K. Lin: *Transformation of zearalenone and zearalenol by rat erythrocytes, Food and Chemical Toxicology*, 1984, pp. 887-891.

ToxFreeFeed: *Gabona szennyezések* <http://www2.sci.u-szeged.hu/microbiology/TOXFREEFEED/indexhu.php> (Letöltés dátuma 2012.09.28)

Élelmiszerek és takarmányok mikrobiális eredetű károsodása:
<http://zeus.nyf.hu/~tkgt/okse/noteta08/note0806.pdf> (Letöltés dátuma 2012.10.02)

PÉTERI Adrienn: *Mikroszkópikus Gombák mikotoxin-bontó képességének vizsgálata*
http://www2.sci.u-szeged.hu/fokozatok/PDF/Peteri_Adrienn_Zsanett/PZS_doktori_disszertacio.pdf
(Letöltés dátuma 2012.10.15.)

Dr. MÉZES Miklós *Penészgombák és mikotoxinok a takarmányokban és az ellenük való védekezés lehetőségei*
<http://www.pointernet.pds.hu/upload/PUBLIKACIO/20020524175719468000000415/P200610172124062290800000000N.jpg> (Letöltés dátuma: 2012.10.15.)

Uwex: http://fyi.uwex.edu/fieldcroppathology/files/2011/03/Fusarium_Esker.jpg
(Letöltés dátuma: 2012.08.07)

Webbeteg: *Az élelmiszerek és a mikotoxinok*
<http://www.webbeteg.hu/cikkek/egeszseges/4752/az-elelmiszerek-es-a-mikotoxinok>
(Letöltés dátuma: 2012.08.05.)

Magyar élelmiszer biztonsági hivatal: *Mikotoxinok*
http://www.mebih.gov.hu/attachments/310_Mikotoxinok_Reszletes.pdf (Letöltés dátuma: 2012.09.28.)

GTM http://www.gtm.hu/php_images/wheat-by-bernat-280x186.jpg (Letöltés dátuma: 2012.08.08)

Kertészeti Áruház: *Penészgombák* <http://www.tuja.hu/kerteszeti-lexikon/peneszgombak.html> (Letöltés dátuma: 2012.08.14.)

Mycotoxins: <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/mycotoxins.htm> (Letöltés dátuma: 2012.08.15)

Fusarium: <http://en.wikipedia.org/wiki/Fusarium> (Letöltés dátuma: 2012.10.01)

EccoFood: *Búza finomliszt* *BL-55*
http://www.eccofood.hu/index.php?option=com_virtuemart&view=productdetails&virtuemart_product_id=37&virtuemart_category_id=11&Itemid=120 (Letöltés dátuma: 2012.09.20)

Dr. MÉZES Miklós: *Penészgombák és mikotoxinok a takarmányokban és az ellenük való védekezés lehetőségei*
<http://www.pointernet.pds.hu/ujsagok/agrazagazat/2006/09/20061011215726440000000690.html> (Letöltés dátuma: 2012.08.05.)

MESTERHÁZY Ákos: *A mikotoxinok és az élelmiszerbiztonság, a megoldás lehetőségei* <http://www.kfki.hu/chemonet/osztaly/eloadas/mesterhazya.html> (Letöltés dátuma: 2012.08.05.)

Gladiatorplus: <http://www.gladiatorplus.com/upload/image/video/738.jpg> (Letöltés dátuma: 2012.08.07)

MESTERHÁZY Ákos: *A mikotoxinok és az élelmiszerbiztonság, a megoldás lehetőségei* <http://www.kfki.hu/chemonet/osztaly/eloadas/mesterhazya.html> (Letöltés dátuma: 2012.08.05.)

Ryu D, Hanna MA, Eskridge KM, Bullerman LB: Heat stability of zearalenone in an aqueous buffered model system. J Agric Food Chem. 2003 Mar 12;51(6):1746-8