10.14751/SZIE.2019.011

SZENT ISTVÁN EGYETEM

# *Fusarium* mikotoxin szennyezettség alakulása Magyarországon különös tekintettel a klímaváltozásra

**Szabóné Tima Helga**

**Budapest**

**2018**

10.14751/SZIE.2019.011

**A doktori iskola**

**megnevezése:** Élelmiszertudományi Doktori Iskola

**tudománya**: Élelmiszertudományok

**vezetője:** **Dr. Vatai Gyula**
egyetemi tanár, Dsc
SZIE, Élelmiszertudományi Kar,
Élelmiszeripari Műveletek és Gépek Tanszék

**Témavezetők:** **Mohácsiné Dr. Farkas Csilla**
egyetemi tanár
SZIE, Élelmiszertudományi Kar,
Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék

**Dr. Kiskó Gabriella**
egyetemi docens
SZIE, Élelmiszertudományi Kar,
Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék

……. ……
Az iskolavezető jóváhagyása A témavezető jóváhagyása

……..
A témavezető jóváhagyása

## Tartalomjegyzék

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE ..... 5
1. BEVEZETÉS ..... 7
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS ..... 10
2.1. A mikotoxinok kutatásának jelentősége ..... 10
2.2. A mikotoxin szennyezettség kockázatai ..... 11
Marker mikotoxinok……15
2.3. *Fusarium* mikotoxinok jellemzése ..... 24
2.3.1. Trichotecénvázas mikotoxinok ..... 24
2.3.2. Zearalenon mikotoxin ..... 27
2.4. A klímavátozás és hatásai ..... 28
2.5. Mikotoxinokra vonatkozó jogi szabályozások ..... 35
2.5.1. A takarmányokra vonatkozó szabályozások ..... 35
2.5.2. Élelmiszerekre vonatkozó szabályozások ..... 38
3. ANYAG ÉS MÓDSZER ..... 42
3.1. Mintavételezés, minta előkészítés ..... 42
3.1.1. Minták ..... 42
Magyarország 2013. évi időjárásának jellemzése……42
Adatabányászat ..... 44
Magyarországi időjárási adatok kategórizálása ..... 48
3.1.2. Mintavétel ..... 54
3.1.3. Minta előkészítés ..... 54
3.2. Mérési módszer ..... 55
3.2.1. ELISA módszerek ..... 55
3.2.1.1. Indirekt kompetitív ELISA……..56
3.3. Statisztikai módszerek ..... 57
3.4. Módszer összehasonlítás ..... 58
3.4.1. LOD értékek meghatározása ..... 60
3.4.2. Mérési eredmények ellenőrzése HPLC módszerrel ..... 64
3.4.2.1. Minták előkészítése folyadékkromatográfiás meghatározához……64
3.4.2.2. Mikotoxinok folyadékkromatográfiás meghatározása……65
4. EREDMÉNYEK ..... 67
4.1. Gabonák mikotoxin szennyezettsége ..... 67
4.2. Növényi alapanyagok *Fusarium* mikotoxin szennyezettsége ..... 78

4.3. Sertés takarmánykeverékek DON, ZEN, T-2 szennyezettsége ..... 85
4.3.1. Marker mikotoxin meghatározás ..... 91
4.4. DON szennyezettség ..... 98
4.5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK ..... 104
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK ..... 106
6. ÖSSZEFOGLALÁS ..... 109
7. SUMMARY ..... 110
8. MELLÉKLETEK ..... 111
M1. IRODALOMJEGYZÉK ..... 111
M2. MELLÉKLETEK ..... 122
9. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS ..... 129

## RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AcDON Mono-acetyldeoxynivalenol (3-AcDON, 15-AcDON)

AcNIV Monoacetylnivalenol (15AcNIV)

$AFB_1$ Aflatoxin $B_1$

BEA Beauvericin

CFC-11 Fluor-triklórmetán

DiAcDON Di- acetyldeoxynivalenol (3, 15-AcDON)

DAcNIV Diacetylnivalenol (4, 15-AcNIV)

DAS Diacetoxiscirpenol

DON Deoxinivalenol mikotoxin

EFSA Európai Élelmiszer-biztonsági Hatóság
(European Food Safety Authority)

ELISA Enzimhez kapcsolt immunszorbens vizsgálat
(Enzyme-linked immunosorbent assay)

FAO Élelmezésügyi és Mezőgazdasági Világszervezet
(Food and Agriculture Organization)

$FB_1$ Fumonizin $B_1$

$FB_2$ Fumonizin $B_2$

$FB_3$ Fumonizin $B_3$

FEFAC Európai Takarmánygyártók Szövetsége
(European Feed Manufacturers' Federation)

FUP Fusaproliferin

FUS Fusarenone-X (4-Acetyl-NIV)

FUC Fusarochromanone

HCFC-22 Difluor-klórmetán

HT-2 HT-2 mikotoxin

HPLC Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia

(High Performance Liquid Chromatography)

IPCC Éghajlatváltozási Kormányközi Bizottság

(Intergovernmental Panel on Climate Change)

JECFA Nemzetközi szakértői tudományos testület, a FAO/WHO élelmiszer-adalékanyagokkal foglalkozó szakértői bizottsága

(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)

LOD Kimutatási határ

(Limit of detection)

LOQ Meghatározási határ

(Limit of quantification)

MAS Monoacetoxyscirpenol

MON Moniliformin

NEO Neosolaniol

NIV Nivalenol

OMSZ Országos Meteorológiai Szolgálat

OTA Ochratoxin-A

T-2 T-2 mikotoxin

WMO Meteorológiai Világszervezet

(World Meteorological Organization)

ZEN Zearalenon mikotoxin (=F-2 mikotoxin)

ZOH Zearalenol α és β izomerek

*„Van egy visszatérő álmom. Ebben az álomban a ma még meg nem született unokámmal beszélgetek. Időben 25 évet repülünk előre, ami emberi léptékkel ugyan jelentős, történelmi léptékkel mérve azonban jelentéktelen. Ő így szól hozzám: Nagypapa, én egy olyan időszakban váltam felnőtté, amikor a klímaváltozás hatásai már közvetlenül veszélyeztetik az emberi civilizációt. Nem hagy nyugodni a kérdés. Vajon 25 évvel ezelőtt Ti megakadályozhattátok volna mindazt, ami mára bekövetkezett? Miért nem hallgattatok a tudósokra? Miért hagytátok figyelmen kívül a kutatási eredményeket?"*
*(részlet- Áder János köztársasági elnök beszédéből: a „COP 21" klímakonferencián)*

## 1. BEVEZETÉS

A klímaváltozás hatással van mindennapi életünkre, közvetlen környezetünkre - állatokra, növényekre- és ennek következtében közvetett módon érinti a mezőgazdaságot és az élelmiszeripart. Tudományos ismereteink alapján az éghajlatváltozás egy állandóan fennálló jelenség Földünk történetében, de a változások felgyorsulásának mértéke az utóbbi 40-50 évben jelentős mértékben növekedett. Ennek elsődleges oka az antropogén hatások nagymértékű megjelenése bolygónkon. A Föld átlaghőmérséklete 1905 és 2005 között +0,74 °C melegedést mutatott. Meteorológiai adatok alapján a hőmérséklet a kontinensek belsejében gyorsabban emelkedett, mint az óceánok felett, ezek a különbségek azonban legmarkánsabban az utóbbi évtizedekben jelentkeztek. Bolygónk átlaghőmérsékletének várható emelkedését csak becsülni tudják a kutatók klímamodellezéssel, melynek a legbizonytalanabb eleme az emberi-antropogén tevékenység jövőben várható mértéke. Ebből adódik, hogy ezzel kapcsolatban számos forgatókönyv létezik, van közöttük átlagos, optimista és pesszimista változat is. A pesszimistább lehetőséget talán erősítheti, a Föld lakosságának robbanásszerű mértékben történő emelkedése. Napjainkban hozzávetőlegesen 7,5 milliárd ember él bolygónkon, a lakosság túlnyomó többsége a szegényebb, gazdaságilag elmaradottabb térségekben él. Ezek közül is Afrika lakossága ~ 1,2 milliárd fő, Ázsiáé ~ 4,4 milliárd, a fejlettebb Európa lakossága jelenleg „csupán" ~ 739.000 000 fő. Az adatok azért is félelmet keltőek, mert a lakosság nagy része olyan kontinenseken él, amelyek gazdasági teljesítményük növelése szempontjából - valamint az óriási emberlétszámból adódóan-valószínűsíthető környezetszennyező energiák felhasználását fogják alkalmazni a túlélésük, életben maradásuk érdekében.

A klímaváltozás jelentősége kiemelkedő, ezért is elengedhetetlen az élelmiszertudomány területein vizsgálni ennek hatását, hogy ezzel is próbáljunk felkészülni egy eddig még számunkra ismeretlen jelenségre, igyekezzünk csökkenteni az élelmiszeripart-élelmiszergazdaságot érintő károkat. Az élelmiszeripar sérülékenysége a gazdasági

veszteségek előtt, elsősorban az emberi élet, az emberi egészség védelme kell, hogy szerepeljen. A klímaváltozással összefüggő élelmiszertudományi kutatások több ország számára stratégiai fontosságúak, Magyarország is elkötelezett az éghajlatváltozást okozó antropogén hatások csökkentésében, édesvíz készleteink megőrzésében.

Doktori értekezésem kiindulópontja a klímaváltozás, az éghajlatváltozás hatása a *Fusarium* mikotoxinok szennyezettségének alakulására Magyarországon. A *Fusarium* mikotoxinok közül célom volt a DON, ZEN, T-2 szennyezettség változásának vizsgálata, amelyek egész Európa területén súlyos gazdasági és egészségügyi károkat okoznak.

Doktori értekezésemben élelmiszer- és takarmányipari alapanyagok DON, ZEN (F-2), T-2 mikotoxin szennyezettségének mértékét vizsgáltam kompetitív ELISA módszerrel. Kutatásom során az élelmezés szempontjából fontos alapanyagokat választottam, úgy, mint: búza, kukorica, árpa, zab; a takarmányozás területéről szója, lucerna pellet, búza, árpa kukorica továbbá keveréktakarmány (sertéstáp) mintákkal dolgoztam.

Dolgozatom foglalkozik a Föld elmúlt évtizedekben tapasztalható hőmérséklet változásával, ezen belül Magyarország részletes éghajlatváltozásával 2008-2015 közötti időszakban. A 2008-2015 közötti időperiódushoz kapcsolódó (évenkénti/évszakonkénti lebontásban) DON mikotoxin szennyezettség változását vizsgáltam matematikai-statisztikai módszerekkel búzában, kukoricában, búzalisztben és száraztésztában.

A dolgozat az alábbi részekre tagolódik:

- Magyarországon betakarított *gabonák* (*n*=116) *Fusarium* mikotoxin (DON, ZEN, T-2) szennyezettségének vizsgálata, a három vizsgált toxin vonatkozásában *marker mikotoxin kijelölés*
- *Takarmányozáshoz használt alapanyagok* (*n*=40) *Fusarium* mikotoxin (DON, ZEN, T-2) szennyezettségének vizsgálata, adatok elemzése, a három vizsgált toxin vonatkozásában *marker mikotoxin meghatározás*
- *Összetett - keveréktakarmányok* (sertéstápok) (*n*=45) *Fusarium* mikotoxin (DON, ZEN, T-2) szennyezettségének vizsgálata, a három vizsgált mikotoxin vonatkozásában *marker mikotoxin meghatározás*
- 2008-2015 közötti időperiódushoz kapcsolódó évenkénti lebontásban a DON mikotoxin szennyezettség változását vizsgáltam matematikai-statisztikai módszerekkel búzában, kukoricában, búzalisztben és száraztésztában (Σ n=818). A szennyezettségi adatokat a magyarországi adott időszakra vonatkozó időjárással hasonlítottam össze

A fent vázoltak alapján doktori munkám során az alábbi célokat fogalmaztam meg:

1. Időjárási adatok elemzése, mikotoxin szennyezettség felmérése:

- DON, ZEN, T-2 mikotoxin szennyezettség vizsgálata hazai növényi alapanyagokban, keveréktakarmányokban, élelmiszerekben (liszt, száraztészta)
- Az eredmények értékelése a három toxin átlagkoncentrációs eredményeinek összehasonlításával, statisztikai elemzésekkel; marker mikotoxin kutatás
- Az értékelt eredményekből a három toxin esetében marker mikotoxin meghatározása statisztikai módszerekkel

2. DON mikotoxin szennyezettség felmérése Magyarországon, adatbányászat segítségével:

- 2008-2015-höz tartozó DON mérési eredményekből adattáblázat létrehozása
- A 2008-2015 közötti hazai időjárási viszonyok részletes elemzése, évszakonkénti lebontásban
- DON toxin eredmények összevetése és elemzése a hazai időjárási viszonyokkal (2008-2015)
- Klímaváltozás – DON mikotoxin szennyezettség összefüggésének meghatározása, leírása, esetleges újabb időjárási tényezők azonosítása a szennyezettség mértékének fokozódásával kapcsolatban

# 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

## 2.1. A mikotoxinok kutatásának jelentősége

A mikotoxinok kutatásának kiemelkedő szerepét nemcsak számos tudományos tanulmány hangsúlyozza, hanem az Európai Unió mezőgazdasággal és élelmiszertudománnyal foglalkozó szervezetei is különös figyelemmel kísérik ezt a területet. A mikotoxinok károsító hatásának megfogalmazásával továbbá az ellenük való „védekezés" jelentőségével már a 2006/583/EK bizottsági ajánlás is foglalkozik. Az Európai Unió hivatalos lapjában megjelent ajánlásban a gabonák és gabonakészítményekben a *Fusarium* toxin szennyezés megelőzéséről és csökkentéséről fogalmaznak meg iránymutatásokat. Az ajánlás foglalkozik a közösségen belül igen elterjedt *Fusarium* toxinok megjelenésével az élelmiszerláncban valamint a takarmányipar területén.

A *Fusarium* toxinok étrendi bevitelének veszélyeztetett csoportjai a csecsemők és kisgyermekek. Az ő esetükben a napi étrendi mikotoxin bevitel megközelíti illetve meg is haladja a megengedett szintet, határértéket (2006/583/EK). Az ajánlás szerint a *Fusarium* mikotoxinok közül különösen a deoxinivalenol esetében közelíti meg a kisgyermekek és serdülők körében az étrendi bevitel a napi megengedhető értéket.

A takarmányokat illetően a deoxinivalenol, zearalenon, az ochratoxin-A, a T-2 és HT-2 toxinok, valamint a fumonizinek előfordulásának gyakoriságát továbbá takarmány-biztonsági kockázatát hangsúlyozza. A 2006/583/EK ajánlás külön kitér és javasolja a *Fusarium*-toxinok előfordulásának fokozottabb ellenőrzését az összetett takarmányokban, valamint a gabona és gabonakészítményekben. A bizottsági ajánlás szerint az *"ilyen elemzések különösen indokoltak a termesztendő terményfajtákra, pl. búzára vagy kukoricára vonatkozóan"* (2006/583/EK). Az Európai Unió legtöbb államában különös hangsúlyt fektetnek a *Fusarium* mikotoxinok megelőzése illetve kialakulása terén szerzett tapasztalatok megosztására. Ezeket az adatokat így fel lehet használni az elkövetkező években a mikotoxinok előfordulásának elkerülése végett meghozandó intézkedések meghatározásához.

A mikotoxinok kutatása a hazai „Élelmiszerlánc-biztonsági Stratégia 2013-2022" címet viselő dokumentumban is szerepel (FVM-NÉBIH 2013), amelyet az MTA Környezettudományi Elnöki Bizottságának Élelmiszer-biztonsági Albizottsága is elfogadott és támogat. Ennek alapján határozták meg a kutatások prioritásait az alábbiak szerint:

*1. „Kutatási célok az élelmiszerek mikrobiológiai biztonsága terén*

*2. Kutatási célok az élelmiszerek nem mikrobiológiai (kémiai, összetételi) biztonsága terén:*

- *Új, hatékony, gazdaságosabb módszerek kidolgozása élelmiszerekkel közvetíthető mikotoxinok, szermaradványok és egyéb vegyi szennyezők kimutatására*
- *Több ártalmas összetevő egyidejű jelenlétéből adódó összhatás, és az élelmiszermátrix szerepének komplex kutatása*

*3. Kutatási célok az élelmiszer-biztonsági kockázatelemzés terén:*

- *Kvantítativ kockázatbecslésre alkalmas adatok gyűjtése, feldolgozása és értékelése*
- *Élelmiszer-biztonsági célkitűzések és kritériumok tudományos megalapozása*
- *A penészgombák és toxikus anyagcsere-termékeik egészség károsító hatásainak komplex becslése. Magyarországon különös tekintettel a Fusarium-gombás fertőzöttségre, és e veszélyek csökkentésének megalapozása*

*4. Kutatási eredmények gyakorlati alkalmazását segítő K+F feladatok*

*5. Kutatások szervezésével és megvalósításával kapcsolatos feladatok*

*6.Technológiatranszfer és ismerettranszfer*

*7. Elérhető legjobb technológiák alkalmazásának elősegítése”*

## 2.2. A mikotoxin szennyezettség kockázatai

A mikroszkopikus gombák által termelt természetes eredetű szennyeződésekhez tartoznak a mikotoxinok, amelyek a penészgombák másodlagos anyagcseretermékei. A mikotoxinok humán- és állategészségügyi károsító jelentősége kiemelkedő. A gombatoxinok elsősorban a növényi, másodsorban az állati eredetű termékekkel, élelmiszerekkel kerülhetnek az emberi szervezetbe. Vannak olyan toxinok, amelyek az anyatejjel is kiválasztódnak (aflatoxinok, zearalenon stb.) és így különösen veszélyesek lehetnek az újszülöttekre (Kovács, 2010/a). Összességében elmondhatjuk, hogy minden korosztály ki van téve a mikotoxinok okozta megbetegedések kockázatának.

A toxinok előfordulásával, károkozásával a mezőgazdaság szinte minden területén találkozhatunk. Jelen lehetnek a növényi alapanyagokban- elsősorban gabonamagvakban - takarmányokban, feldolgozott élelmiszereinkben (Kovács, 2010/a; De Santis et al., 2017). A mikotoxinokat termelő penészgombák világszerte előfordulnak, így az általuk okozott

veszteségek globálisan az egész emberiséget minden egyes ország gazdaságát-élelmiszeriparát sújtják. A FAO becslése szerint az elmúlt néhány évben jelentősen növekedett a világ összes gabona termésének mikotoxin szennyezettsége, amely eléri a 25%-os érintettséget. Az ebből adódó éves világméretű veszteség, becslések szerint 1 millió tonna élelmiszer és élelmiszeripari termék és ezek mellett az embereket és állatokat ért egészségkárosodások. A humán jellegű károsító hatások között leggyakrabban a rákos elváltozások, gyomor-bélrendszeri megbetegedések és a neurológiai elváltozások állnak a vezető helyeken (Boutrif és Canet, 1998; Wild és Gong, 2010; Pitt et al., 2012). Galvano és munkatársai (2005) összegyűjtötték a mikotoxinok hatására kialakuló humán megbetegedéseket, amelyeket az 1. táblázat mutat be.

**1. táblázat:** Feltehetően mikotoxinok hatására visszavezethető humán megbetegedések (Galvano et al., 2005)

| **Megbetegedés** | **Toxin forrása** | **Toxin fajtája** |
|---|---|---|
| Alimentáris toxikus Aleukémia | gabonamagvak | **Trichotecének** |
| Krónikus nefropátia | gabonamagvak | Ochratoxin A |
| Beriberi | rizs | Citreoviridin |
| Ergotizmus | rizs, gabonamagvak | Ergot alkaloidák |
| Özofágeális tumorok | kukorica | Fumonizin $B_1$ |
| Hepatocarcinoma | földimogyoró, gabonamagvak | Aflatoxin $B_1$ |
| Kashin Beck betegség | gabonamagvak | **Trichotecének** |
| Kwashiorkor | gabonamagvak | Aflatoxin $B_1$ |
| Reye's syndroma | gabonamagvak | Aflatoxin $B_1$ |
| Hererák | számos élelmiszer | Ochratoxin A |

A Trichotecén-vázas fuzariotoxinok között a T-2, HT-2, DON, DAS, nivalenol a jelentősebb képviselők, amelyek előfordulása a gabonamagvakban jelent élelmiszer-biztonsági kockázatot. A mikotoxinok immunválaszt befolyásoló hatásairól Surai és Dvorska 2005-ben megjelent publikációjában számolt be. A 2. táblázatban bemutatott adatok alapján a trichotecének vonatkozásában a legnagyobb kockázatot az immunszupresszív hatásuk miatt

kialakuló másodlagos betegségek jelenthetnek humán és állati vonatkozásban egyaránt. Ezzel kiemelkedő jelentőségű humán- és állat egészségügyi továbbá élelmiszer-biztonsági szerepük.

**2. táblázat:** Egyes mikotoxinok immunválaszt befolyásoló hatásai
(Surai és Dvorska, 2005)

| **Mikotoxin** | **Immunválaszt befolyásoló hatás** |
|---|---|
| $AFB_1$ | Sejtes immunválasz, fagocita aktivitás |
| OTA | Csökkent komplement és interferon termelés |
| | Humorális immunválasz, ellenanyag termelés |
| | Csökkent makrofág aktivitás, IL termelés, NK sejt aktivitás |
| $FB_1$ | Ellentmondásos eredmények: serkentő és gátló egyaránt |
| **Trichotecének** | **Legkifejezettebben immunszupresszív** |
| (**T-2**, NIV, **DON**) | **Direkt citotoxikus az immunsejtekre** |
| | **Autoimmun-válasz, gyulladás** |

Élelmiszer - biztonsági jelentőségük ebben a vonatkozásban a bevitt táplálék (elsősorban a gabonamagvak és ezekből készült élelmiszerek) és a betegségek (akut és krónikus) összefüggésében van.

Magyarországon a *Fusarium* fajok megjelenésével kell nagyobb mértékben számolnunk, de ezek estében is számos fuzariotoxin jelent élelmiszer- és takarmány-biztonsági kockázatot (Kovács, 2010/a). Hazánkban 16 fajt azonosítottak, de világszerte hasonló sokszínűséget mutatnak a tudományos adatok. A domináns fajok közé tartoznak a *F. graminearum, F. culmorum, F. avenaceum* (Mesterházy, 2010). A 3. táblázat Logrieco és munkatársai (2002) által közölt különböző *Fusarium* fajok által termelt mikotoxinokat mutatja be.

**3. táblázat:** Toxint termelő *Fusarium* fajok és toxinjaik (Logrieco et al., 2002)

| ***Fusarium* fajok** | **Mikotoxinok** |
|---|---|
| *F. acuminatum* | T-2, MON, HT-2, DAS, MAS, NEO, BEA |
| *F. anthophilum* | BEA |
| *F. avenaceum* | MON, BEA |
| *F. cerealis* | NIV, FUS, ZEN, ZOH |
| *F. chlamydosporum* | MON |
| ***F. culmorum*** | **DON, ZEN**, NIV, FUS, ZOH, AcDON |
| *F. equiseti* | ZEN, ZOH, MAS, DAS, NIV, DAcNIV, FUS, FUC, BEA |
| ***F. graminearum*** | **DON, ZEN,** NIV, FUS, AcDON, DAcDON, DAcNIV |
| *F. heterosporum* | ZEN, ZOH |
| *F. nygamai* | BEA, $FB_1$, $FB_2$ |
| *F. oxysporum* | MON, BEA |
| *F. poae* | DAS, NIV, FUS, MAS, T-2, HAT-2, NEO, BEA |
| *F. proliferatum* | $FB_1$, BEA, MON, FUP, $FB_2$ |
| *F. sambucinum* | DAS, T-2, NEO, ZEN, MAS, BEA |
| *F. semitectum* | ZEN, BEA |
| *F. sporotrichioides* | T-2, HAT-2, NEO, MAS, DAS |
| *F. subglutinans* | BEA, MON, FUP |
| *F. tricinctum* | MON, BEA |
| *F. verticillioides* | $FB_1$, $FB_2$, $FB_3$ |

A táblázatban kiemeltem a *Fusarium graminearum*-ot és *Fusarium culmorum*-ot és ezek legjellemzőbb mikotoxinjait a DON-t és a ZEN-t. A két toxin valamint a jellemző *Fusarium* fajok tekintetében kiemelkedő jelentőségű mind élelmiszer-biztonsági, mind kémiai-analitikai szempontból a *marker mikotoxinok kutatása*. A táblázatban láthatjuk, hogy egy-egy faj több különböző mikotoxint is termelhet, ezért valószínűsíthető ezen toxinok egyidejű jelenléte, ebből adódó multitoxikus hatásaik.

## Marker mikotoxinok

Egyidejűleg egy mintában végzett különböző mikotoxinok vizsgálatai esetében szükséges lehet marker toxin kiválasztása a vizsgálati csoportból. Ennek jelentősége az analitikai vizsgálatok tervezése, vizsgálati költségek tervezése továbbá a takarmány vizsgálatok között az állatbetegségek okainak azonosítása szempontjából lehet kiemelkedő. Azonban a marker toxinok szerepe nemcsak takarmány-biztonsági, kémiai-analitikai, hanem élelmiszer-biztonsági szempontok szerint is fontos lehet.

*„További figyelmet érdemel az egy mintában detektált különböző toxinok egyidejű előfordulása a különböző mintákban."*
*„Külön figyelmet kell fordítani az egy mintában egymás mellett előforduló toxinokra, mert azok különösen jelentős élelmiszer-biztonsági kockázatot jelentenek"*
*(Ambrus és Szeitzné, 2010)*

Az állattenyésztés és a takarmányozás területén a mikotoxinok negatív hatása szintén komoly gazdasági kihívást jelent a világ minden területén. A FEFAC egy 2015-ben megjelent tanulmánya szerint az Európai Unióban évente hozzávetőlegesen 475 millió tonna takarmányt fogyasztanak a gazdasági haszonállatok (FEFAC, 2015). Ebből az adatból is kitűnik, hogy a mezőgazdaság egy fontos szereplője a takarmány előállítás és feldolgozásnak, az élelmiszeripar mellett. A takarmány ellátás és a takarmány-biztonság egymással szorosan összefüggő fogalmak. A takarmány eredete, szennyezettsége, feldolgozása, kezelése és tárolása, valamint számos más, a piaccal kapcsolatos tényező befolyásolhatja a takarmány minőségét és biztonságát (Pinotti és Dell'Orto, 2011). A takarmányellátási-lánc biztonsági kockázatai között első helyen a mikotoxinok szerepelnek. Globálisan elmondhatjuk, hogy a penészgombák toxinjai jelentős hatást gyakorolnak az emberek és állatok egészségére, a gazdaságokra és a nemzetközi kereskedelemre (Hussein és Brasel, 2001; Wu, 2007, 2015; Wild és Gong, 2010; Bryden, 2012).
A gabonafélék fontos növényi alapanyagai nemcsak az élelmiszeriparnak, de nagyobb arányú összetevői az állatok takarmányának is (Lancova et al., 2008; Zhang és Caupert, 2011; Cheli et al., 2013). A mikotoxinok előfordulása különböző technológiai folyamatokban lévő gabonákban és gabonakomponensekben valamint a melléktermékekben a takarmányipar számára érdekes világméretű témakör a takarmányok értékesíthetősége és biztonsága céljából (Pinotti et al., 2016). A takarmányok tekintetében nemcsak a keveréktakarmányokra, késztápokra kell koncentrálni a mikotoxinok szennyezettségi szintjének felmérését hanem az

egyéb, például a kérődzők esetében jelentős mértékű más növényi alapanyagokra is. Driehuis és munkatársai (2008) Hollandiában 24 gazdaságban vizsgálták a tejelő tehenek mikotoxin étrendi bevitelét. Ezen gazdasági haszonállatok takarmányozásának fő-alkotóelemei nemcsak az összetett- keveréktakarmányok voltak, hanem fű- és kukoricaszilázs, mint növényi alapanyagok. A szerzők megállapították, hogy a mikotoxin szennyezettség fő forrása a feldolgozatlan növényi alapanyagok és a legelők terményei voltak. Az összetett takarmányokhoz viszonyítva a szilázsok DON és ZEN szennyezettsége 2,9-3,5 –szer nagyobb volt (Driehuis et al., 2008). Marquardt és Madhyastha (2015) tanulmányában a keveréktakarmányok és takarmányipari növényi alapanyagok tekintetében a DON és a ZEN mikotoxin koncentrációk szintjei: 88-969 µg/kg és 3-37 µg/kg között alakultak, amelyek megállapításaik szerint jelentős kockázati tényezőnek minősülnek az állattenyésztés területén.

A globális klímaváltozás elősegítheti a mikotoxinokat termelő penészgombák szaporodását (Farkas és Beczner, 2009). A mikotoxinnal szennyezett takarmánnyal etetett állatok –bár a növényi élelmiszerekhez viszonyítva csak kis mértékben- élelmiszer-biztonsági problémát okoznak, így a belőlük készített termékek elfogyasztása is kockázatot jelenthet, valamint ezen állatok fejlődése, súlygyarapodása visszaesik és szaporodásbiológiai, állategészségügyi kondícióik is romlanak. Ezen paraméterek hatást gyakorolnak az állattenyésztésre, így a gazdasági hatékonyság és a termelési mutatók is csökkenhetnek (Bata, 2001). Az utóbbi időben egyre nagyobb figyelmet kap a mikotoxinok kutatása. Több kísérletet végeznek arra vonatkozóan, hogy az élelmiszerláncban csökkenteni lehessen a toxinok bekerülésének az esélyét. Arra vonatkozóan is vannak vizsgálatok, hogy az elvárt vagy megengedett határértéken belül előforduló szennyeződéseket (pl. alapanyagok esetén) még alacsonyabb szintre tudják mérsékelni. A toxinok élelmiszerláncba kerülési esélyét a gabonafélék termesztése során alkalmazott megelőző agrotechnikai műveletekkel lehet minimalizálni (Mesterházy, 2015). Ezek közül kiemelhető a legelterjedtebben alkalmazott kémiai növényvédelem, aminek hatékonyságát és hatásosságát Mesterházy és munkatársai (2014) vizsgálták. Ugyancsak említésre méltó az egyre szélesebb lehetőségeket biztosító biológiai növényvédelem, melynek alkalmazása során természetes ellenségekkel szoríthatók vissza a kórokozók (László, 2013). A megelőző védekezésben nagyon fontos tényező a fajtaválasztás, és e tekintetben a fajtanemesítés, azaz a rezisztens vagy toleráns gabonafajták előállítása igen hangsúlyos szerepet kap (Mesterházy et al., 2011; Szabó-Hevér et al., 2013).

A megelőző agrotechnikai műveletek hatékonysága és hatásossága nagymértékben függ az évjárathatástól és a technológiai fegyelemtől, ahogy azt az elmúlt évek tapasztalatai is mutatják. A *Fusarium* gomba szaporodásához kedvező évjáratokban fel kell készülni arra,

hogy toxinnal különböző mértékben szennyezett búzatételek betakarítására is sor kerülhet. Az ilyen évjáratokban annak kockázata megnövekszik, hogy a takarmányok nagyobb mértékben lesznek toxinokkal szennyezettek, mint az élelmiszeripari alapanyagok. Ennek alapvető oka, hogy az élelmiszer-előállításban nagyon szigorú jogszabályi előírásokat betartva kell kiválasztani az alapanyagokat. Azokat a gabonatételeket, amelyek pl. a toxinszennyezettségük miatt nem felelnek meg e kritériumoknak, takarmánnyá minősíthetik. Ennek ismeretében kiemelt szerepük van azon kutatásoknak, amelyeknek célja a betakarítást követő időszakban a toxinkoncentráció csökkentése. Az állati takarmányozásban az egyik ilyen lehetőség a takarmányokhoz olyan anyagok hozzáadása, amelyek képesek megkötni az állati szervezetet károsító toxinokat. Mézes (1997) beszámolt arról, hogy toxinetetési kísérleteket végeztek különböző korcsoportú sertéseken, szarvasmarhákon, tojótyúkokon, pulykákon és követték egészségügyi állapotuk változásait. A kísérletek során bizonyítást nyert, hogy a fuzariotoxikozis kevert tünetekben mutakozik meg, továbbá a fuzariotoxinok iránt legérzékenyebb állatfaj a sertés és a baromfi. Ezen fajoknál szaporodásbiológiai zavarokat valamint az immunrendszer legyengülése következtében másodlagos megbetegedéseket mutattak ki. A szarvasmarha kevésbé érzékeny ezekkel a toxinokkal szemben, mint a sertés.

A betakarítást követő időszakban a gabona korszerű berendezésekkel történő tisztításával is van lehetőség a toxintartalom csökkentésére. A színválogatás és a felülettisztítás hatékonyságát elsődlegesen élelmiszeripari alapanyagokon vizsgálják (Kecskésné és Sembery, 2015; Kecskésné et al., 2016/a), de van lehetőség ezek alkalmazására a takarmányozáshoz felhasznált anyagok előkészítésénél is, amennyiben az indokolt. Kecskésné és munkatársai (2016/b) felhívják a figyelmet arra, hogy a malomipari felhasználásra szánt búza őrlés előtti színválogatása során a malmi búza mellett képződött frakció, azaz az úgynevezett melléktermék DON-toxin tartalma minden esetben nagyobb a kiinduló, tisztítatlan búzatétel toxintartalmához képest. A növekedés mértéke viszont nem mutat korrelációt sem a kiinduló alapanyag toxintartalmával sem a tisztítás hatékonyságával, ugyanis egyéb, előre nehezen meghatározható tényezők is befolyásolják azt. Ezt azért fontos tudni, mert az említett melléktermékeket takarmányként, illetve takarmánykeverékek alkotójaként hasznosítják. A kísérleti eredmények szerint mindenképp javasolt e felhasználás előtt a melléktermék toxintartalmának a mérése, hogy a takarmányok toxinszennyezését elkerülhessük.

A DON, F-2, és T-2 mikotoxinok okozta takarmány és takarmányipari alapanyagok (elsősorban gabonafélék) szennyezettsége világszerte komoly élelmiszer- és takarmány-biztonsági kihívást jelentett és jelent ma is (Placinta et al., 1999). Németországban egy

korábbi kutatás szerint, amelyet búza mintákon végeztek (*n*=84), a DON mikotoxinok értékei 4,0 – 20500 µg/kg közötti tartományban voltak mérhetők, az F-2 toxin 1,0 - 8040 µg/kg, a T-2: 3,0 - 250 µg/kg között (Muller és Schwadorf, 1993). Lengyelországban 1990-ben, szintén búza mintákat vizsgálva, a DON toxin szennyezettség 2000 – 40000 µg/kg között alakult, míg a zearalenon toxin ennél a tartománynál kevesebb volt, 10 - 2000 µg/kg (Perkowski et al., 1990). Kukorica esetében, ugyancsak Lengyelországban, kizárólag deoxinivalenol toxint vizsgáltak, és a minták szennyezettsége nagyobb mértékűnek bizonyult a búzáénál. Itt az értékek 4,0 - 320 mg/kg között alakultak (Placinta et al., 1999). Finnországban állati takarmányok és gabonák (kukorica, búza, árpa) DON szennyezettsége 7,0 - 300 µg/kg, és az F-2 toxin értékek 22,0 – 95,0 µg/kg között alakultak (Hietaniemi és Kumpulainen, 1991), amelyek lényegesen alacsonyabbak az előzőektől. Az adatok azt mutatják, hogy a toxinkoncentráció egy adott területen és időszakban nagy eltéréseket mutathat. Ennek megfelelően az élelmiszer-biztonsági feltételeket csak akkor lehet megbízhatóan teljesíteni, ha kidolgozzuk és alkalmazzuk a takarmány alapanyagok toxinszintjének ellenőrzési rendszerét. Megállapítható, hogy Európában és így hazánkban is kiemelt jelentőségű a *Fusarium* mikotoxinok - közöttük elsősorban a DON és a ZEN valamint a T-2 - koncentrációjának monitorozása növényi alapanyagokban, élelmiszerekben és takarmányokban egyaránt.

A mikotoxinok állategészségügyi hatásai jelentős károkat okoznak az állattenyésztésben és ez a feldolgozóiparra is hatással lehet. A DON és a ZEN mikotoxinok esetében a legérzékenyebb állatfaj a sertés és a baromfi. Ezen állatoknál a szaporodásbiológiai zavarok mellett, az immunrendszer károsító hatása következtében kialakuló másodlagos megbetegedések előfordulása okoz jelentős gazdasági kieséseket-károkat (Cseh és Kovács, 2010). A sertések esetében igen változatos kórképekben megjelenő betegségekről számolt be Smith 2005-ben (4. táblázat).

**4. táblázat:** Gyakoribb mikotoxinok és azok hatása sertések esetében

(Smith, 2005)

| **Penészgomba** | **Mikotoxin** | **Károsodott szerv-szervrendszer, tünetek** |
|---|---|---|
| *Aspergillus flavus* | Aflatoxin $B_1$, $B_2$, $G_1$, $G_2$ | máj elhalás, máj zsírosodás, immunszupresszió |
| *Aspergillus ochraceus* | Ochratoxin A | immunszupresszió |
| *Fusarium moniliform* | Fumonisin, Fusarium sav | immunszupresszió, tüdőödéma, hányás, letargiásállapot, izom-koordinációs zavarok |
| ***Fusarium graminearum*** | **Deoxinivalenol** | ***hányás, bélhámsérülések, immunszupresszió*** |
| ***Fusarium roseum*** | **Deoxinivalenol** | ***fekélyek a gyomorban, immunszupresszió, vetélés, terméketlenség*** |

A táblázatban kiemeltem a DON toxin okozta tüneteket, amelyekből kitűnik, hogy ezek könnyen összetéveszthetők egyéb más kórokozók okozta betegségekkel, így diagnosztizálásuk meglehetősen bonyolult. Fontos, az állattartó telepeken felmerülő egészségügyi problémák esetén első lépések között az etetett takarmány vizsgálata DON továbbá ZEN valamint T-2 mikotoxinokra vonatkozóan is.

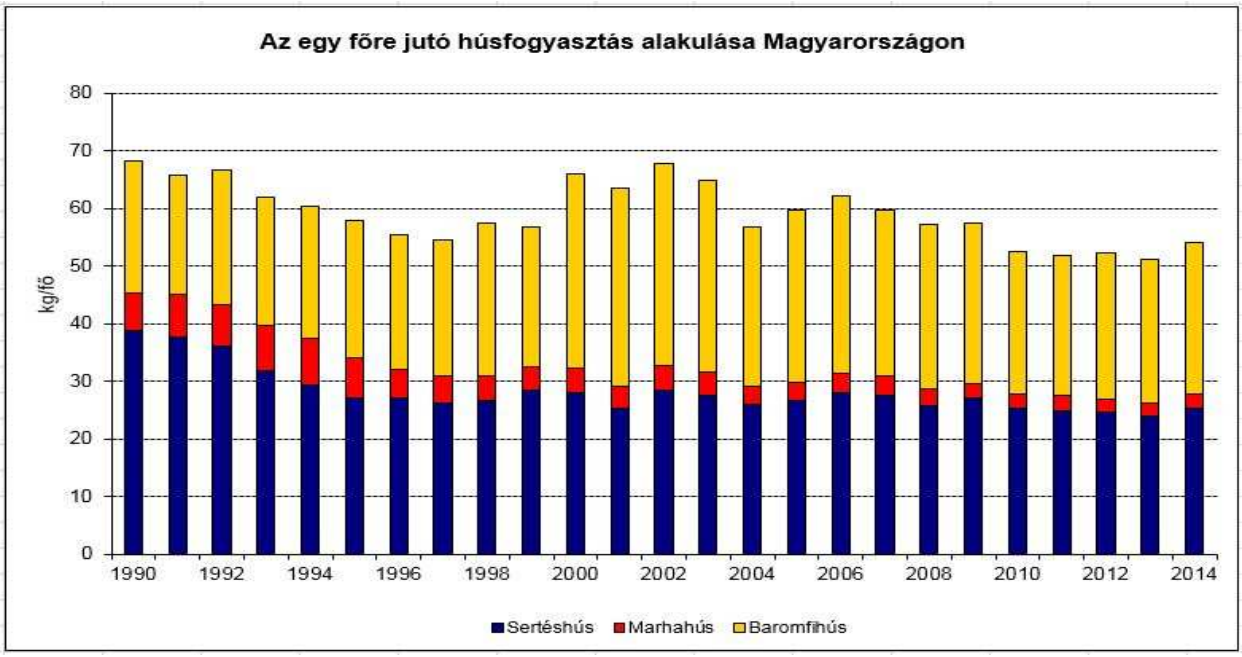
Széleskörű tanulmány alapján az 5. táblázatban részletesebben mutatom be az egyéb mikotoxinokat és egészségkárosító hatásait néhány állatfaj esetében.

**5. táblázat:** A mikotoxinok jellegzetes hatásai néhány állatfaj vonatkozásában (Mézes, 1997)

| **Mikotoxin** | **Fontosabb gombafajok** | **Fő hatásuk** | **Leginkább érzékeny állatfajok** |
|---|---|---|---|
| Aflatoxinok | *Aspergillus flavus* | hepatotoxikus | kacsa, pulyka |
| Sperigmatocisztin | *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus versicolor* | hepatokarcinogén | broiler, fiatal sertések, vemhes koca, borjú, szarvasmarha |
| $AFB_1$ | *Aspergillus flavus* | teratogén | kacsa, pulyka, |
| OTA | *Aspergillus parasiticus* | fejlődési rendellenességet okozó | broiler, fiatal sertések, vemhes koca, borjú, szarvasmarha |
| Patulin | *Aspergillus ochraceus* | fejlődési rendellenességet okozó | broiler, fiatal sertések, vemhes koca, borjú, szarvasmarha |
| Subratoxin B | *Penicillium* fajok | fejlődési rendellenességet okozó | broiler, fiatal sertések, vemhes koca, borjú, szarvasmarha |
| Citreoviridin | *Penicillium citroviridae* | neurotoxikus | sertés,tyúk, szarvasmarha |
| Patulin | *Aspergillus* fajok | neurotoxikus | sertés,tyúk, szarvasmarha |
| Fumonizin | *Penicillium* fajok, *Fusarium moniliformal* | neurotoxikus | sertés,tyúk, szarvasmarha |
| OTA | *Aspergillus ochraceus* | nefrotoxikus | sertés, kacsa, tyúk |
| Citrinin | *Penicillium* fajok, *Penicillium citrimum* | nefrotoxikus | sertés, kacsa, tyúk |
| **Trichotecénvázasok** | ***Fusarium* fajok,** *Stachybotrys* fajok, *Myrothecium* fajok | dermatotoxikus | sertés, szarvasmarha, tyúk, pulyka, ló |
| **Vomitoxin (DON), Trichotecénvázasok** | ***Fusarium* fajok** | emetikus | sertés, szarvasmarha, tyúk, pulyka, ló |
| **ZEN**, Aurofuzarin | ***Fusarium* fajok** | ösztrogén, genitotoxikus | sertés, tejelő szarvasmarha, tyúk, pulyka, juh |

A *Fusarium* fajokat kiemelve a tanulmányból a DON és T-2 (trichotecénvázas mikotoxinok) valamint a ZEN toxinok egészségkárosító hatását láthatjuk, amelyek számos állatfajt érintenek. A táblázatban aláhúzással kiemeltem a sertéseket, amelyeknek mint gazdasági

haszonállatoknak Magyarországon kiemelkedő szerepük van. Az 1. ábrán a hazai húsfogyasztás alakulását láthatjuk 1990-től 2014-ig. Az egy főre jutó húsfogyasztás (kg/fő), így a sertéshús fogyasztása is csökkent az utóbbi mintegy 15 évben, arányait tekintve a sertéshús mellett a baromfihús fogyasztása kiemelkedő.




**1. ábra:** Egy főre jutó húsfogyasztás alakulása Magyarországon 1990-2014 között. Kék színnel a sertéshús, piros színnel a marhahús, sárga színnel a baromfihús került jelölésre (Forrás: Sertésinformációs Rendszer)

A minőségi sertéshúsok – akár friss tőkehúsról, akár feldolgozott húskészítményről van szó – fogyasztása világszerte még mindig a legnépszerűbb az összes húsféleség közül. Az Európai Unió országai között Magyarország az élmezőnybe tartozik a sertésállomány nagyságát (ezer darab/ év) illetően, amelyet a 2. melléklet (**M2.1.**) mutat be.

A takarmányok mikotoxinokra irányuló monitorozásán kívül - elsősorban sertések esetében - élelmiszer-biztonsági kockázati szempontból fontos lenne a sertéshúsok mikotoxin szennyezettségének tanulmányozása is. Ez azért fontos, mert az állatokat ért egészségkárosító hatások után az embereket érintő élelmiszer-biztonsági kockázat témaköréhez jutunk. Irodalmi adatokban állatkísérletekkel igazolták, hogy *„az egyed korábbi toxin-terhelési mérlege befolyásolhatja a későbbi toxinterhelés hatását”*(Banczerowskiné és Világi, 2010). Ez a megállapítás a multitoxikus hatás jellemzésére vonatkozik, amely szerint az egyedek életük során előzetesen kapott toxinterhelésének fennálló hatásai következtében egy újabb önmagában hatástalan dózis is károsító következményekkel járhat (Banczerowskiné és Világi,

2010). A megállapításból azt a következtetést is levonhatjuk, hogy akár határérték alatt mikotoxinokkal szennyezett termékek esetében is egészségkárosító hatással számolhatunk.
A JECFA 2000-ben készült tanulmányában sertéshúsok ZEN toxin vizsgálatai során a vizsgált minták 100 %-ában kimutatható volt (>LOD) a mikotoxin <100/LOQ µg/kg mennyiségben. Kínai kutatók (Zou et al., 2011) sertés és baromfi húsokat vizsgáltak (*n*=64) DON és T-2 mikotoxinokra. Megállapítást nyert, hogy ugyancsak alacsony koncentrációban, de egyes állati izomrészekben kimutathatók voltak a toxinok. Vizsgálati eredményeiket a 6-7. táblázatok mutatják be.

**6. táblázat:** DON, T-2 mikotoxinok előfordulása húsokban (Zou et al., 2011)

| **Minták** | **Sertés dorsalis izomzat** | | **Sertés zsíros hátrész** | | **Baromfi izomzat** | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Mikotoxinok** | **DON** | **T-2** | **DON** | **T-2** | **DON** | **T-2** |
| Pozitív/összes minta | 0/20 | 6/20 | 3/10 | 5/10 | 0/36 | 6/36 |
| Pozitív minták átlaga (µg/kg) | <LOD | 0,0987 | 0,1048 | 0,0231 | <LOD | 0,0804 |

<LOD: kimutatási határ alatt

**7. táblázat:** Koncentráció tartományok húsokban (Zou et al., 2011)

| **Minták** | **Sertés dorsalis izomzat** | **Sertés zsíros hátrész** | **Baromfi izomzat** |
|---|---|---|---|
| **Mikotoxinok** | **DON /T-2** | **DON /T-2** | **DON /T-2** |
| Koncentráció tartomány (µg/kg) | <LOD/0,0240–0,4515 | 0,1232–0,4265/ 0,0240–0,0906 | <LOD/0,0704–0,0904 |

<LOD: kimutatási határ alatt

A koncentráció tartományokat értékelve élelmiszer-biztonsági oldalról a sertés zsíros hátrészben mind a DON mind a T-2 mikotoxinok jelenléte aggodalomra adhat okot. A sertés dorsalis izom mintákban valamint a vizsgált baromfi izomzatokban a DON nem volt kimutatható, de a T-2 toxin igen. A pozitív minták átlagkoncentrációját vizsgálva a legnagyobb mennyiségben a DON toxin fordult elő a húsokban.

A mikotoxinok megjelenése a haszonállatok szervezetében - a fent említett példa alapján - izomzatában egyértelmű bizonyítéka a takarmányok toxin szennyezettségének következményeként kialakuló élelmiszer-biztonsági és ebből adódó humán egészségügyi károsító hatásainak és összefüggéseiknek.

A tápláléklánc csúcsán álló ember joggal várhatja el, hogy a termék, amely az asztalára kerül, kielégítse az egészségmegőrzés és betegségmegelőzés szempontjából megfogalmazott igényeit. Kiemelt feladat az élelmiszer-biztonság fenntartása, vagyis a nem biztonságos termékek kiszűrése, kivonása a gyártói, kereskedelmi forgalomból.

A takarmányok penészgombákkal való szennyezettsége nem jelenti minden esetben a mikotoxinok jelenlétét is (Campbell et al., 1986). A pontos mikotoxin szennyezettség megítéléséhez kellően érzékeny és specifikus analitikai módszerekre van szükség. Általánosságban elmondható, hogy bármely mikotoxin kimutatása igen bonyolult, idő- és költségigényes folyamat, amelynek pontossága nagymértékben függ a mintavétel és mintaelőkészítés helyességétől, illetve hatékonyságától (Campbell et al., 1986). A meghatározási módszerek kezdetben vékonyréteg kromatográfiára épültek, majd gáz- és folyadék kromatográfián alapultak (Bata et al., 1985; Pohland et al., 1986). Ezeket egészítették ki a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) módszerek (Pohland et al., 1986). Ezek mellett a nagyhatékonyságú analitikai módszerek mellett rutin jellegű, immunanalitikai eljárásokat is kifejlesztettek egyes mikotoxinok mennyiségi és minőségi meghatározására (Barna-Vetró et al., 1994). Az utóbbi években az ELISA, és a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás módszer fluoresszenciás és tömeg spektrometriás válfajainak előretörése figyelhető meg (Búza és Marthné, 2010). A jelenleg alkalmazott vizsgálati módszereket három nagy csoportba sorolhatjuk: gyorsmódszerek, elválasztás technikák, immunológiai eljárások.

A mikotoxinok kimutatásának azonban vannak korlátai is, ezek elsősorban a maszkolt (a gazdanövények sejtfalkomponensekké alakítják a toxinokat) és kötött toxinokra (biopolimerekhez kötött toxinok) értendők. A maszkolt mikotoxinok meghatározásának akadálya megváltozott fizikokémiai sajátságaikból adódnak, amelynek következménye lehet az eltérő extrahálhatóságuk. Emiatt a szokásos vizsgálati módszerek alkalmazásakor ezek kvantifikálása bizonytalan, a kötött toxinoké pedig nem lehetséges (Farkas et al., 2014).

## 2.3. *Fusarium* mikotoxinok jellemzése

### 2.3.1. Trichotecénvázas mikotoxinok

A penészgombákat megjelenésük alapján két nagy csoportba sorolhatjuk: szántóföldi és raktári penészgombák (Bullerman et al., 1983). Előfordulásuk az adott növények, termények nedvességtartalmától függ. A 8. táblázat a gabonákat károsító penészgombákat és előfordulásukat mutatja be Bullerman és munkatársai (1983) munkássága alapján.

**8. táblázat:** Gabonát károsító penészgombák

| Csoportok | Penészgombák | Előfordulásuk és szükséges nedvességtartalom |
|---|---|---|
| Szántóföldi penészgombák | *Alternaria*<br>***Fusarium***<br>*Cladosporium*<br>*Helminthosporium* | szántóföld; 20- 25% |
| Raktári penészgombák | *Aspergillus*<br>*Penicillium* | raktárak, tárolók; 13- 18% |
| | ***Fusarium***<br>*Chaetomium* | raktárak, tárolók; 20- 25% |

A *Fusarium* gombák megjelenésének élelmiszer-biztonsági kockázatával mind a szántóföldeken, mind a gabonatároló raktárakban számolnunk kell. Ezért ezen, fajok valamint az általuk termelt mikotoxinok kiemelkedő jelentőségűek az élelmiszertudományi kutatások között.

A *Fusarium* fajok által termelt legjelentősebb mikotoxinok:

- *trichotecének*
- *zearalenon*
- fumonizinek.

A trichotecénvázas fuzariotoxinokhoz tartoznak a DON és a T-2 toxinok. A DON toxint a *Fusarium graminearum* és a *Fusarium culmorum* is termeli. Az említett két *Fusarium* faj másik jelentősebb mikotoxinja a zearalenon toxin (Logrieco et al., 2002; Wells et al., 2017). A DON expozíció legfontosabb tényezői a gabonák és a gabonaalapú élelmiszerek (Pleadin et al., 2013).

A DON a trichotecén mikotoxinok csoportosításában a *„B”* típusú trichotecének közé tartozik (Ueno, 1977). A 9. táblázat a trichotecén mikotoxinok csoportosítását mutatja be.

**9. táblázat:** Trichotecén mikotoxinok csoportosítása (Ueno, 1977)

| | | |
|---|---|---|
| **Trichotecének** | **„A” trichotecének** | HT-2 |
| | | **T-2** |
| | | NEO |
| | | DAS |
| | **„B” trichotecének** | **Deoxinivalenol (DON)** |
| | | NIV |
| | | Fusarenon- X |
| | *„C”* trichotecének | |
| | *„D”* trichotecének | |

Ueno a trichotecének csoportosításánál kémiai strukturájukat vette alapul, és így *“A”*, *“B”*, *“C”*, *“D”* alcsoportokba sorolta a vegyületeket. Az *“A”* trichotecének esetében a domináns termelő a *Fusarium sporotrichoides* és az esetlegesen toxintermelő *Fusarium poae*, funkcionális csoportként a 8. C - atomon ketocsoportot nem tartalmaznak. A négy csoport közül ez a legnagyobb, amely magában foglalja a T-2-t, HT-2-t a DAS-t és a NEO-t. A *“B”* csoport estében a domináns *Fusarium* fajok: a *Fusarium culmorum* és a *Fusarium graminearum*. A csoport tagjai a 8. C - atomon ketocsoportot tartalmaznak (Perkowski et al., 1997). A *“C”* csoport tagjai a 7. 8. vagy a 9. 10. szénatomoknál egy második epoxigyűrűt is tartalmaznak. A *“D”* alcsoport tagjai pedig ezen felül a 4. és a 15. C-atom között kettős észterkötéssel kapcsolva még egy makrociklusos gyűrűt is tartalmaznak. A *“C”* és a *“D”* csoportba tartozó trichotecéneket azonban nem *Fusarium* fajok termelik.

A trichotecének kémiailag szeszkviterpének, ez több mint 50 kémiailag rokon vegyületet jelent. Mindegyik trichotecénvázas fuzariotoxin tartalmaz egy 15 szénatomból álló láncon egy epoxid gyűrűt, a 9. és 10. szénatom között egy olefinkötést, a 12. és 13. szénatomnál egy epoxi gyököt. Az utóbbiak alapján ezeket a vegyületeket 12, 13 - epoxitrichotecénnek is nevezik, amelyet ApSimon és munkatársai (1990) jellemeztek (**M2.2.** melléklet, kémiai szerkezeti ábra).

A *Fusarium*-ok által okozott mikotoxikózis legtöbbször kevert tünetekben jelentkezik és szaporodásbiológiai problémákat is okozhat, akár a terméketlenség kialakulását is előidézheti.

A DON toxin által okozott fertilitás csökkenésnek oka lehet a petesejtek érésének, a termékenyülés, és az embriók fejlődésének gátlása. A fuzariotoxinok iránt a legérzékenyebb állatfaj a sertés és a baromfi, amelyeknél a toxinok legtöbbször az immunrendszer károsítását okozzák, ennek következményeként másodlagos megbetegedések jelentkezhetnek, amiből gazdasági és termelési veszteségek jelenhetnek meg (Glávits és Ványi, 1995). A trichotecén típusú toxinok (úgy, mint a DON, T-2, HT-2, DAS, NIV) eddig ismert káros hatásai lehetnek: gastrointestinalis zavarok (hasmenés, hányás), immunszupresszív hatás, idegrendszeri elváltozások indukálása, dermatotoxikus hatások, módosíthatják a mellékvese működését, valamint (az előzőekben említett módon) befolyásolják a szaporítószervek funkcióit (Kovács, 2010/b). Sejtszinten vizsgálva gátolják a DNS és RNS szintézist, károsan befolyásolják a membrántranszport folyamatokat (aminosavak, glükóz, Ca-K csatorna), valamint a vér és nyiroksejtekben kimutatták apoptózist indukáló hatásukat (Galvano et al., 2005; Kovács, 2010/b). A heveny deoxinivalenol toxikózist - amely hányingert, hányást, szédülést, fejfájást, hasi fájdalmat és lázat is okozhat - nehezen különíthetjük el bármely enteropatogén baktérium vagy toxinja okozta megbetegedésektől. Nagyon nehéz feladat a toxin felvétel és az ok-okozati összefüggés bizonyítása (Kovács, 2010/b). A mikotoxinok károsító hatásait azonban számos külső és belső tényező is befolyásolhatja, ezek lehetnek: kumulálódás, koncentráció, toxinok interakciói, szinergizmusa, addicionáló hatásuk, a toxinhatás időtartama, egyedi érzékenység, egészségi állapot, stressz helyzet.

A deoxinivalenol főként búzában, kukoricában, árpában, és zabban gyakoribb szennyező toxin, a T-2 és HT-2 zabban, búzában és árpában (Mateo et al., 2002; Sforza et al., 2006, Farkas és Beczner, 2009). A különböző mikotoxinok előfordulása akár kis koncentrációkban is szinergista hatást válhat ki, ezért nem jelentős szennyezettség esetén is együttes megjelenésük az élelmiszerekben, gabonákban komoly hatással lehet az emberi és állati szervezetekre. Ezeknek a hatásoknak az elemzésére, további kutatására szükség van a jövőben is (CAST, 2003; Erber és Binder, 2004). Egyre növekvő számú mikotoxin válik ismertté, de ezek közül csak néhány található rendszeresen az élelmiszerekben és takarmányokban, ezeknek viszont humán- és állategészségügyi jelentőségük kiemelkedő (Cavret és Lecoeur, 2006). Fontos feladat az élelmiszer- és takarmányipari alapanyagok (elsősorban gabonák) és gabona alapú élelmiszerek DON mikotoxinnal való szennyezettségének monitorozása a klímaváltozással összefüggésben, a magasabb (esetenként határérték feletti) koncentrációk értékelése az adott évben megállapított hőmérsékleti és csapadék értékekkel.

A Fusarium fajok a gabonákon, a búzán és kukoricán kívül több fűfélét is fertőzhetnek (Kecskésné et al., 2016/a). A búza fuzáriózis jelei, gyökér- szár és kalász elváltozások

jelentkeznek, a beteg kalászkák felületén gyakran fekete pontok, rózsaszín vagy narancssárga micélium és spóratömeg látható. A kalász fuzáriózis kialakulására a nedves csapadékos, viszonylag hűvös idő hajlamosít. Fontos az esős napok száma, és a lehullott csapadék mennyisége a fertőződés kockázatának szempontjából (Bozsik et al., 2011). Korábbi kutatások szerint, a búza virágzásakor, illetve a betakarítás idején bekövetkezett csapadékos időjárás magasabb toxinszintet eredményez (Kecskésné et al., 2016/a). A fuzáriózist okozó gombák általában a gyengültségi állapotba került növényeket fertőzik meg, de a kórokozók életben maradhatnak a talajban (növényi maradványokon), vetőmagban vagy annak felületén is. A kukorica fuzáriózis során a betegség tünetei a növény bármelyik fejlődési fázisában jelentkezhetnek (Bozsik et al., 2011). A fuzáriumos fertőzés kockázatának szempontjából kelés időszakában meghatározó a talaj hőmérséklete (hideg talaj) és nedvességtartalma (magas). A kifejlett növény esetében a csapadékmennyiség és eloszlás (virágzáskor aszályos, érési időszakban sok csapadék) befolyásolja a betegség kialakulását.

### 2.3.2. Zearalenon mikotoxin

A zearalenon mikotoxint a *Fusarium* nemzetség számos tagja termelheti. Magyarországon leggyakrabban előforduló *Fusarium* penészgombák közül a *Fusarium graminearum* és a *Fusarium culmorum* jellemző toxinja a DON mikotoxin mellett (Mesterházy, 2010). A zearalenon más néven F-2 toxin, amely egy rezorcilsav-lakton (**M2.3.** melléklet, kémiai szerkezeti ábra). Származékai: alfa-zearalenol, beta-zearalenol, zearalanon, 3'-hidroxizearalenon, 8'-hidroxizearalenon, 5'-formilzearalenon (Shier, 1998). A leggyakoribb ZEN termelő fajok: *Fusarium graminearum, Fusarium culmorum, Fusarium avenaceum, Fusarium equiesti, Fusarium lateritium, Fusarium semitectum, Fusarium crookwellense* (Logrieco et al., 2002; Bennett és Klich, 2003).

A ZEN biológiai hatását vizsgálva változatos képet mutat. Kémiai szerkezetében hasonló a természetes ösztrogén vegyületekhez, így főként szaporodásbiológiai és ivarzási problémát okoz származékaival. Sokszor a természetes ösztrogén vegyületeknél erősebb hatással is bírhat (Gromadzka et al., 2008). Általánosságban elmondható, hogy a ZEN – összehasonlítva a nő és a hímivarú állatokat - hím ivarú állatok reprodukciójára gyakorolt hatásáról ma még kevesebbet tudunk. Állatkísérletekben igazolták, hogy a ZEN a herék csírahámsejtjeinek elfajulását okozta, amelynek hatására a spermiogenezis zavara következett be (Ványi et al., 1995).

## 2.4. A klímavátozás és hatásai

A Meteorológiai Világszervezet az Éghajlati Bizottsággal együtt a világ számos országával együttműködve 1993 óta bocsát ki éves állásfoglalásokat a Föld éghajlati állapotáról. Ezen kiadványok célja, hogy hiteles, tudományos információt szolgáltassanak bolygónk minden lakójának az éghajlatunk változásáról, változékonyságáról.

A Föld felszínének hőmérséklet növekedése a XX. században +0,6 és +0,7 °C között alakult. Akadtak évek, amelyekben a hőmérsékletnövekedés meghaladta az átlagot. A klímaváltozás sebessége 1976-ban érte el fordulópontját, innen a változás mértéke háromszorosa lett az elmúlt száz év egészére vonatkozó értéknek (OMSZ, 2005). Az Északi-féltekén a legmelegebb évtized a 90-es években volt, ekkor a felszíni hőmérséklet átlagosan +0,38 °C -kal volt melegebb az előző évtizedek átlagától. Ennél is melegebb volt a 2000-2004 közötti időperiódus, amikor a hőmérsékletnövekedés +0,58 °C volt átlagosan (WMO, 2005).

Az éghajlatváltozás okait három tényezőre vezetik vissza a kutatók:

- minden külső hatás nélküli belső ingadozásai az éghajlati rendszernek
- természetes külső tényezők
- antropogén hatások

Az éghajlati rendszer belső ingadozásai között a természetes, minden külső hatás nélküli folyamatokat értjük, amelyet a légkör, a szárazföld, az óceánok és a szilárd víz változékonysága jellemez. Globális átlagban azonban a változékonyság e tényező esetében csak néhány tized fokos.

A természetes külső tényezők közé tartoznak a naptevékenység ingadozásai, a napállandó fluktuációjának idősora és a vulkánkitörések. Ezek azonban magyarázatai lehetnek századunk első felének pár tized fokos melegedésére is, amit eddig inkább az üvegházhatásnak tulajdonítottunk (OMSZ, 2017/a).

Az antropogén hatások az emberi tevékenység következtében kialakuló természet –légkör – környezetkárosító tényezők.

*„A légköri üvegházhatás antropogén eredetű erősödése miatt a jövő század közepére a Föld hőmérséklete magasabbra emelkedhet, mint a történelem során valaha. Ezért elsősorban olyan, úgynevezett üvegházgázok bizonyítottan emelkedő tendenciája a felelős, mint a szén-dioxid ($CO_2$), a metán ($CH_4$), a dinitrogén-oxid ($N_2O$) és a halogénezett szénhidrogének”* (OMSZ, 2017/a).

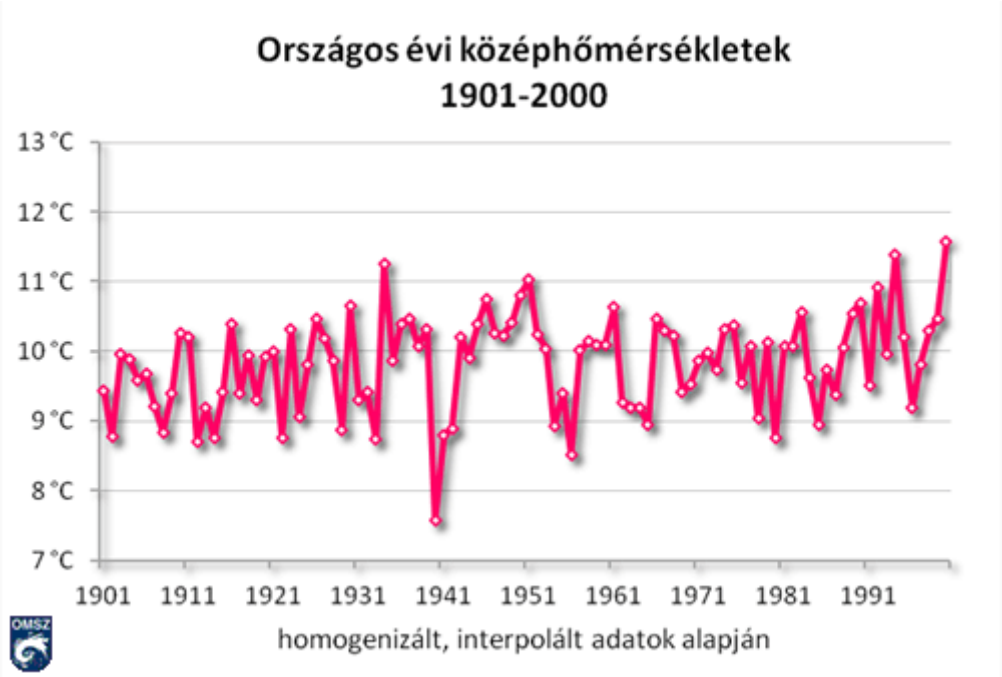
Légkörünkben a különböző üvegházgázok koncentrációjának változása az elmúlt több mint kettőszáz évben jelentősen megnövekedett. A változásokat a 10. táblázat mutatja be, amelyben a világ iparosodás előtti és 2005-ös évben mért adatait láthatjuk.

**10. táblázat:** Üvegház hatású gázok koncentrációjának változásai 1750-2005 között.
(OMSZ, 2017/a alapján)

| | **$CO_2$** | **$CH_4$** | **$N_2O$** | **CFC-11** | **HCFC-22** |
|---|---|---|---|---|---|
| Kezdeti koncentráció 1750-ben | 280 ppm | 715 ppb | 270 ppb | Nulla! | Nulla! |
| Koncentráció 2005-ben | 379 ppm | 1774 ppb | 319 ppb | 268 ppt | 132 ppt |
| Koncentráció-növekedés | 1,9 ppm/év | 7 ppb/év | 0,8 ppb/év | -1,4 ppt/év | 5 ppt/év |
| Légköri élettartam (év) | **50-200** | 8-12 | **120** | 45 | 12 |
| Globális melegítő potenciál (100 év) | 1 | 23 | 296 | 4600 | 1700 |

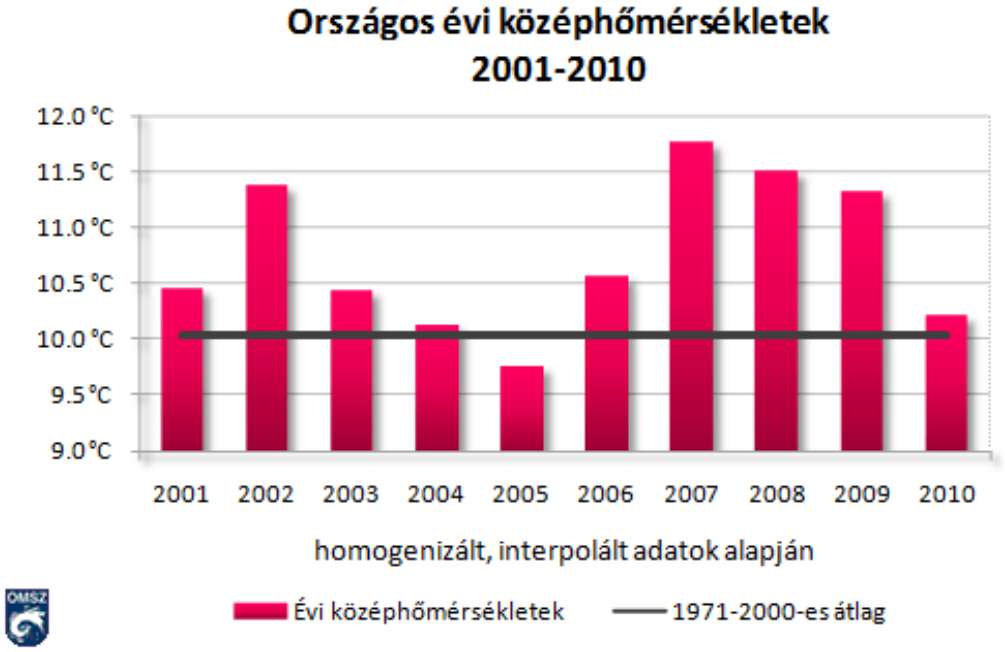
*Globális melegítő potenciál: adott gáz, meghatározott időszak alatt mekkora sugárzási kényszerrel rendelkezik*
*ppm: mg/kg*
*ppb: µg/kg*
*ppt: ng/kg*

A gázok légköri élettartama légköri tartózkodási idejüket határozza meg, amely a szén-dioxid és a dinitrogén-oxid esetében aggasztóan magas. Ez a megállapítás azt vetíti elénk a jövőben, hogy ha az emberiség képes is lesz megállítani az üvegház hatású gázok kibocsátásának növekedését, a korábbi kibocsátások következményeként az utókor hosszú időn át tapasztalni fogja káros hatásait. Az antropogén hőtermelés lokális következményeit főleg a városokban, nagyvárosokban észleljük, a városi-hősziget hatás révén, amely azt jelenti, hogy nyaranta a városok belterületén több fokkal melegebb van, mint a perem területeken.
Magyarország éghajlatváltozását – az elmúlt száz év megállapításai alapján – szintén a változékonyság jellemezte. Ezt jól tükrözi a 2. ábra, amelyben hazánk 1901-2000 közötti időszakának országos évi középhőmérsékletének alakulását láthatjuk.



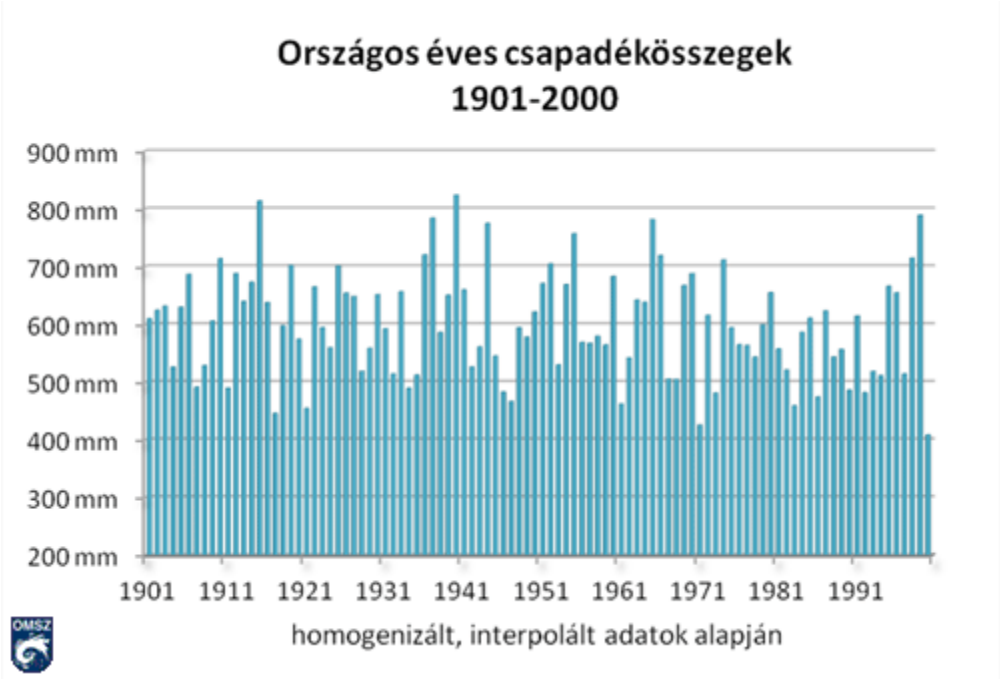

**2. ábra:** Magyarország évi középhőmérsékletének alakulása 1901-2000 között. (forrás: OMSZ, 2017/b)

Összehasonlítva az 1901-es és 1991-es valamint a 2000-es középhőmérsékleti értékeket ~+ 2°C-os növekedést láthatunk. A 2001 és 2010 közötti időszakban az éves középhőmérsékleti adatokat az egy-egy évben kiugró magasabb értékek jellemzik. A 3. ábrán láthatjuk, hogy nagyobb fluktuáció mutatkozik az értékekben, de összevetve a 1971-2000-es átlaggal növekedést figyelhetünk meg.



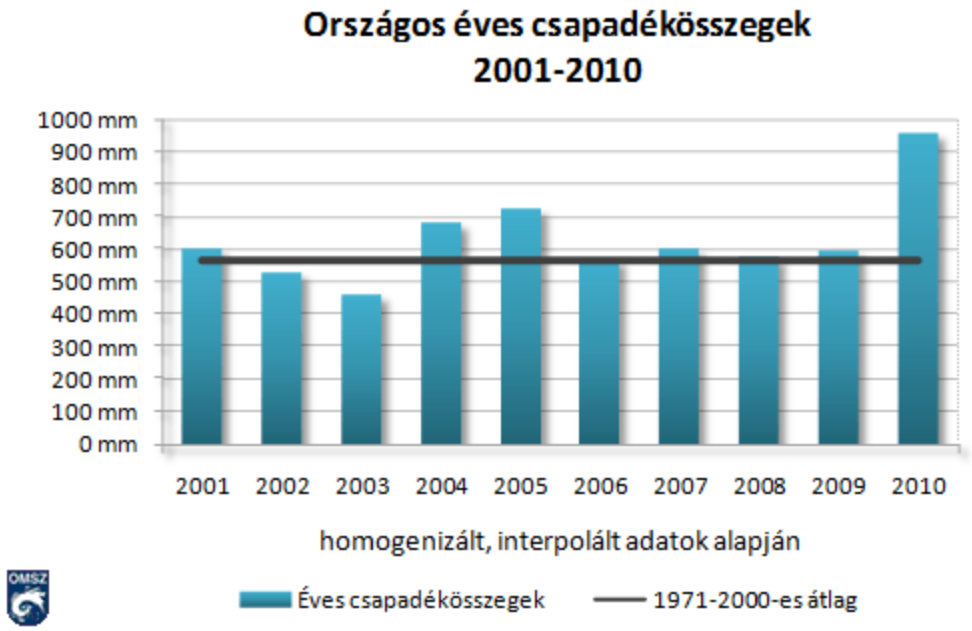

**3. ábra:** Magyarország évi középhőmérsékletének alakulása 2001-2010 között. (forrás: OMSZ, 2017/b)

A hőmérsékleti adatok mellett fontos figyelembe vennünk a csapadék mennyiségének alakulását, mert ez is jellemezheti az éghajlatváltozás felgyorsulását a szélsőséges viszonyok megjelenítésével. A 4. ábra Magyarország éves átlagcsapadék mennyiségének alakulását mutatja be 1901-2000 között.




**4. ábra:** Magyarország évi átlag csapadékmennyiségének alakulása 1901-2000 között. (forrás: OMSZ, 2017/b)

Az ábrán kiugró értékek figyelhetők meg, ahol a csapadék mennyiségek igen magas értékeket is elérnek. Ezeknek az értékeknek érdemes az évszakonkénti lebontását is megvizsgálni, hiszen a mezőgazdaságot ért klímaváltozás hatásai a szélsőséges időjárási viszonyokkal értékelhetők, ezek mutatják a felgyorsult hazai és globális éghajlatváltozás tényét. A 2001 és 2010 közötti időszakot összehasonlítva az 1971-2000-es átlagokkal szintén kimagasló csapadékmennyiségek figyelhetők meg, amit az 5. ábra mutat.




**5. ábra:** Magyarország éves csapadékösszegeinek alakulása 2001-2010 között. (forrás: OMSZ, 2017/b)

Figyelmünket nem kerülheti el az, hogy ebben az esetben egy rövid 10 éves időperiódus van összehasonlítva egy 29 éves időszakkal, amely esetében a „kilengések" gyakoribbnak tűnnek.

Földünk vészjelzései, amelyeket mi is szinte nap, mint nap a híradásokból is ismerünk a következők: melegedő tengerek, olvadó gleccserek, emelkedő tengerszint, vékonyodó jégtakaró, gyakori erdő-bozóttüzek, csökkenő vízkészletek, tartós aszály, több csapadék, enyhébb telek, később érkező ősz, terjedő betegségek. Ezeknek a jeleknek egy részét már a közvetlen környezetünkben is észleljük, anélkül, hogy bármilyen hírforrást igénybe vennénk.

A klímaváltozás következményeként megjelenő új ökológiai viszonyok az élelmiszer előállítás és ellátás költségeinek növekedését okozhatják. *„Az éghajlatváltozás felgyorsulása következtében módosulhatnak a növények ültetési, vetési időpontjai, a műtrágyázás mértéke, valamint a csökkenő édesvíz készletek miatt az öntözések gyakorisága"*(Farkas és Beczner, 2009). A globális felmelegedésnek Magyarországon is erősen érezhető hatásai, jelei vannak. Előrejelzések azt mutatják, hogy a közeljövőben ez az állapot súlyosbodni fog. Magyarország gabona készletét 2011-2012-ben súlyos aszály pusztította (Cserháti, 2013). A változó éghajlati-időjárási viszonyok következtében, a közeljövőben nagyobb mennyiségben csökkenő vagy kieső termésmennyiséggel kell számolnunk. Fontos megállapítás, hogy a növényeket fertőző járványok szoros kapcsolatban állnak az időjárási jelenségekkel, amelyek

komolyan veszélyeztetik az élelmiszer-biztonságot, és ez leginkább a fejlődő országokban jelent nagy problémát (Paterson és Lima, 2010, 2011). Egymással kölcsönhatásban lévő kockázatok: az élelmiszer és takarmány alapanyagok fokozódó mikrobás szennyeződése valamint a fokozott rovarkártételek mellett a gabonafélék penészgombákkal történő fertőződésének nagyobb veszélye és az ezzel összefüggő megnövekedett mikotoxin termelés (CSL, 2005; Farkas és Beczner, 2009). A változó, melegedő éghajlat elősegítheti a penészgombák szaporodását, és ezzel a mikotoxinokkal szennyezett terményekkel, takarmányokkal etetett állatok mikotoxikózisainak gyakorisága és súlyossága is növekedni látszik (Hocking, 2003). A fejlett országokban a súlyos akut mikotoxikózisok ritkábban fordulnak elő, a kisebb hosszú időn át fennálló toxinhatások több év illetve akár évtizedek alatt kialakuló krónikus vagy kumulatív hatásai – rákos elváltozások, immun-deficiencia – súlyos kockázatot jelentenek (Van Egmond, 1996).

Az IPCC és a WMO állásfoglalásai, a VAHAVA (VÁltozás-HAtás-VÁlaszadás) elnevezésű kutatási program, valamint az Országgyűlés által elfogadott Nemzeti Éghajlat-változási Stratégia megállapításai alapján: *„a Kárpát-medencében fokozottan érvényesülő klímaváltozás várható”* (Farkas és Beczner, 2009). Ez a folyamat hátrányosan érintheti a hazai mezőgazdaságot a várható termésmennyiségek kiesése miatt, kedvezőtlen hatású lehet az élelmezés- és élelmiszer-biztonságra a kártékony mikroorganizmusok elszaporodásának következtében, valamint a humán- és állategészségügyre is közvetett hatással lehet. A globális klímaváltozás elősegítheti a mikotoxinokat termelő penészgombák szaporodását (Farkas és Beczner, 2009). A mikotoxinnal szennyezett takarmánnyal etetett állatok élelmiszer-biztonsági problémát okozhatnak így a belőlük készített termékek elfogyasztása is kockázatot jelenthet, valamint ezen állatok fejlődése, súlygyarapodása visszaesik és szaporodásbiológiai, állategészségügyi kondícióik is romlanak. Ezen paraméterek hatást gyakorolnak az állattenyésztésre, így a gazdasági hatékonyság és a termelési mutatók is csökkenhetnek (Kovács, 2010/a).

Az utóbbi időben egyre nagyobb figyelmet kap a mikotoxinok kutatása. Több kísérletet végeznek arra vonatkozóan, hogy az élelmiszerláncba csökkenteni lehessen a toxinok bekerülésének az esélyét. Arra vonatkozóan is vannak vizsgálatok, hogy az elvárt vagy megengedett határértéken belül előforduló szennyeződéseket (pl.: alapanyagok esetén) még alacsonyabb szintre tudják mérsékelni. Azonban eddig nem álltak rendelkezésünkre olyan hazai kutatási, tudományos anyagok, amelyek az eredményeik bemutatását az éghajlati viszonyok változásának összehasonlításával végezték volna.

*„Hogyhogy nem olvastátok azokat az elemzéseket, vagy ha olvastátok, hogyhogy nem vontátok le belőlük a megfelelő következtetéseket, amelyek azt bizonyították, hogy a klímaváltozásnak súlyos gazdasági következményei is lesznek? Miért nem honosítottatok meg klímabarát technológiákat? Miért nem támogattátok nagyobb mértékben az erre irányuló kutatásokat?*
*És hogyhogy nem hallottátok meg a világ vallási vezetőinek intéseit, amelyek a jövő generáció iránti felelősségre figyelmeztettek benneteket? Miért vártátok tehetetlenül, hogy bekövetkezzen mindaz, aminek mi már szenvedő alanyai vagyunk?Nagypapa, miért hagytátok, hogy így legyen? Miért nem cselekedtetek időben?"*

*(részlet- Áder János köztársasági elnök beszédéből: a „COP 21" klímakonferencián, 2015, Franciaország)*

## 2.5. Mikotoxinokra vonatkozó jogi szabályozások

A mikotoxinokra vonatkozó előírások átfogó leírását a Mezőgazdasági és Élelmezési Világszervezet tette közzé (FAO, 1997). A későbbiekben a világon több mint 99 ország bocsátott ki takarmányokra és élelmiszerekre vonatkozó határérték megállapításokat. A kontinensek összehasonlítása alapján Afrika a legkevésbé szabályozott terület a mikotoxin határértékek meghatározása szempontjából. Az afrikai helyzet azért is aggasztó, mert itt az összes lakosságot vizsgálva (~1,2 milliárd fő) közel 500 millió ember él olyan országokban, ahol egyáltalán nincs semmilyen mikotoxinokra vonatkozó szabályozás. Afrika éghajlati viszonyai miatt is kritikus helyzetben van az élelmiszer-biztonság szempontjából, hiszen az aflatoxinok megjelenése nagyobb kockázatot jelent ebben a térségben (Szeitzné, 2007).
A mikotoxin szabályozást illetően Európa az első helyen szerepel, ahol valamennyi országában, szigorúan és részletesen szabályozott irányértékek és határértékek találhatók. Részletes határérték szabályozást azonban csak a „legveszélyesebb" mikotoxinokra az aflatoxinokra (aflatoxin $B_1$ és összes aflatoxin: $B_1+B_2+G_1+G_2$ valamint aflatoxin $M_1$-re) vonatkozóan találunk (Szeitzné, 2007).

### 2.5.1. A takarmányokra vonatkozó szabályozások

A takarmányok mikotoxin szennyezettségére vonatkozóan az Európai Bizottság kibocsátotta a 2006/576/EK ajánlását:a DON, ZEN, OTA, T-2, HT-2 és a fumonizinekre vonatkozóan, amely a „ *A deoxinivalenol, a zearalenon, az ochratoxin-A, a T-2, a HT-2 és a fumonizinek állati takarmányozásra szánt termékekben való előfordulásáról*" címet kapta. Az ajánlásban megemlítik a mikotoxinok káros hatásait, élelmiszer- és takarmány-biztonsági kockázatukat.

A DON és a ZEN mikotoxinok hatásának jellemzésében leírják, hogy korlátozott mértékben az állatok által felvett takarmányokból a húsba, tojásba, tejbe kerülhetnek, és ezzel kis mértékben hozzájárulhatnak az embereket ért mikotoxin kitettséghez (2006/576/EK).

A T-2 és HT-2 toxinokra vonatkozó szakvélemények leírják, hogy ezen, toxinokra vonatkozóan jelenleg még kevés adat áll rendelkezésünkre az állati takarmányozásra szánt termékek tekintetében. Ennek ellenére megállapítják: *„a jelek szerint azonban a T-2 és a HT-2 állati takarmányozásra szánt termékekben való előfordulása aggodalomra adhat okot*" (2006/576/EK). A 2006/576/EK -ban az (ajánlásoknál) első helyen a DON, ZEN, T-2 toxinok állati takarmányozásra szánt gabonafélékben, gabonakészítményekben, összetett-keveréktakarmányokban való előfordulásának gyakori ellenőrzését ajánlja. A 11. táblázat a DON -ra és a ZEN -re vonatkozó irányértékeket határozza meg különböző állati takarmányozásra szánt növényi alapanyagoknál, kiegészítő és teljes értékű takarmányoknál.

**11. táblázat**: Mikotoxinokra vonatkozó irányértékek az állati takarmányokban

| **Mikotoxin** | **Takarmányozásra szánt termék** | **Irányérték mg/kg-ban (ppm), 12 %-os nedvességtartalmú takarmányra vonatkozóan** |
|---|---|---|
| Deoxinivalenol | Takarmány-alapanyag ([1]) | |
| | — Gabonafélék és gabonakészítmények([2]), kivéve a kukorica melléktermékeket | 8 |
| | — Kukorica melléktermékek | 12 |
| | Kiegészítő és teljes értékű takarmányok, kivéve: | 5 |
| | — sertéseknek szánt kiegészítő és teljes értékű takarmányok | 0,9 |
| | — borjaknak (< 4 hónap), bárányoknak és gidáknak szánt kiegészítő és teljes értékű takarmányok | 2 |
| Zearalenon | Takarmány-alapanyag ([1]) | |
| | — Gabonafélék és gabonakészítmények ([2]), kivéve a kukorica melléktermékeket | 2 |
| | — Kukorica melléktermékek | 3 |
| | Kiegészítő és teljes értékű takarmányok | |
| | — malacoknak és kocasüldőknek (fiatal emsék) szánt kiegészítő és teljes értékű takarmányok | 0,1 |
| | — tenyészkocáknak és hízósertéseknek szánt kiegészítő és teljes értékű takarmányok | 0,25 |
| | — borjaknak, tejelő marháknak, juhoknak (beleértve a bárányokat) és kecskéknek (beleértve a gidákat) szánt kiegészítő és teljes értékű takarmányok | 0,5 |

(1) Azon gabonafélék és gabonakészítmények esetében, amelyekkel közvetlenül etetik az állatokat, különösen ügyelni kell arra, hogy a napi adagban való alkalmazásuk ne vezessen ahhoz, hogy az állatok a mikotoxinok magasabb szintjének legyenek kitéve, mint abban az esetben, ha kizárólag teljes értékű takarmányt használtak a napi adagban.

(2) A „gabonafélék és gabonakészítmények” fogalom nem csak a takarmány-alapanyagok forgalmáról és felhasználásáról szóló, 1996. április 29-i 96/25/EK tanácsi irányelv (HL L 125., 1996.5.23., 35. o.) mellékletének B. részében található, a főbb takarmány-alapanyagok nem kizárólagos listájának „Gabonamagvak, azokból nyert termékek és melléktermékek” című 1. címsorában szereplő takarmányokat foglalja magában, hanem más, gabonafélékből nyert takarmányt is, különösen a gabonából nyert száraztakarmányt és szálastakarmányt.

A T-2 valamint a HT-2 mikotoxinokra vonatkozó indikatív értékeket a 2013/165/EU bizottsági ajánlás fogalmazza meg. Az ajánlás az állati és emberi fogyasztásra szánt

gabonafélék és gabonatermékek esetében határoz meg irányértékeket. A tudományos szakvélemények megállapításai szerint a két toxin tekintetében nagy éves szennyezettségi ingadozások figyelhetők meg, ezért még több adat szükséges ezen, toxinok hatásainak megállapításához. Az adatokat elsősorban gabona és gabonakészítményekből lenne célszerű összegyűjteni: *„a gabonafélék és a gabonatermékek toxintartalmának nyomon követéséből származó adatok gyűjtésének célja az emberek és az állatok T-2 és HT-2 toxinnak való kitettségében megfigyelhető változások és tendenciák értékelése”* (2013/165/EU). Gabonatermékek és takarmánykeverékek esetében a 12. táblázatban bemutatott indikatív értékeket határozták meg.

**12. táblázat:** Takarmányként való felhasználásra szánt gabonatermékek, takarmánykeverékek T-2, HT-2 toxin mennyiségének indikatív értékei ([1])

| | **A T-2 és a HT-2 toxin együttes mennyiségének indikatív értékei (µg/kg), amelyek felett – többszöri kimutatás esetén bizonyosan – vizsgálatokat ajánlott végezni** ([2]) |
|---|---|
| Malomipari zabtermékek (magburok) | 2000 |
| Más gabonatermékek | 500 |
| Takarmánykeverék, a macskaeledel kivételével | 250 |

(1) Az e mellékletben található értékek olyan indikatív értékek, amelyek felett – többszöri kimutatás esetén bizonyosan – ajánlott vizsgálatokat végezni a T-2 és a HT-2 toxin nagy mennyiségeit eredményező tényezők feltárására vagy az élelmiszer- és a takarmányfeldolgozás hatásainak meghatározására. Az indikatív értékek az EFSA adatbázisában rendelkezésre álló, az EFSA szakvéleményében bemutatott adatokon alapulnak. Az indikatív értékek nem tekinthetők takarmány-, illetve élelmiszer-biztonsági határértékeknek.

(2) A takarmányként való felhasználásra szánt gabonafélék és gabonatermékek, valamint a takarmánykeverékek indikatív értékei 12 % nedvességtartalmú takarmányra vonatkoznak.

### 2.5.2. Élelmiszerekre vonatkozó szabályozások

Az élelmiszerekben előforduló mikotoxinokra vonatkozóan az Európai Bizottság maximális határértékeket állapított meg. A 466/2001/EK rendeletet az 1881/2006/EK rendelet váltotta fel. A rendelet aflatoxinokra, OTA, patulin, DON, ZEN és fumonizinekre ír elő kötelező határértékeket különböző termékekben. Az állati eredetű termékekre vonatkozóan a tejen kívül nincs kötelező határérték kidolgozva (aflatoxin $M_1$: 0,05 µg/l).

A rendelet úgy fogalmaz, hogy: *„a közegészség védelme érdekében alapvető fontosságú a szennyező anyagok olyan szinten tartása, ami toxikológiailag elfogadható”* (1881/2006/EK).

A rendeletben megfogalmazott szakvélemények szerint a felső határértékeket olyan szigorúan kell meghatározni, hogy az élelmiszerek fogyasztásához kapcsolódó kockázatok figyelembevételével ésszerűen elérhetők legyenek. A fent említett rendeletet az 1126/2007 rendelet a kukoricában és kukoricakészítményekben előforduló egyes szennyező anyagok felső határértékeinek megállapításaiban módosította.

A 13. táblázat a DON-ra és a ZEN-re vonatkozó határértékeket mutatja különböző gabonákban és élelmiszerekben.

**13. táblázat:** Mikotoxin határértékek élelmiszerekben

| **Élelmiszerek** | **Felső határérték µg/kg** |
|---|---|
| **Deoxinivalenol mikotoxinra vonatkozóan** | |
| Feldolgozatlan gabonafélék, kivéve durumbúza, zab és kukorica | 1250 |
| Feldolgozatlan durumbúza és zab | 1 750 |
| Feldolgozatlan kukorica | 1 750 |
| Közvetlen emberi fogyasztásra szánt gabonafélék, gabonalisztek (beleértve a kukoricalisztet, a kukoricakorpát és a kukoricadarát, korpa, mint közvetlen emberi fogyasztásra szánt késztermék és csíra | 750 |
| Tészta (száraz) | 750 |
| Kenyér (beleértve a kis pékárukat), tésztafélék, kekszek, gabonaszeletek és reggeli gabonapelyhek | 500 |
| Csecsemők és kisgyermekek számára készült feldolgozott gabonaalapú élelmiszerek és bébiételek | 200 |
| **Zearalenon mikotoxinra vonatkozóan** | |
| Feldolgozatlan gabonafélék (pl. búza) a kukorica kivételével | 100 |
| Feldolgozatlan kukorica | 350 |
| Közvetlen emberi fogyasztásra szánt gabonafélék, gabonaliszt, korpa, mint közvetlen emberi fogyasztásra szánt késztermék és csíra | 75 |
| Finomított kukoricaolaj | 400 |
| Kenyér (beleértve a kis pékárukat), tésztafélék, kekszek, gabonaszeletek és reggeli gabonapelyhek, kivéve a kukoricaszeleteket és kukoricaalapú reggeli pelyheket | 50 |
| Közvetlenül emberi fogyasztásra szánt kukoricaszeletek és kukoricaalapú reggeli pelyhek | 100 |
| Csecsemők és kisgyermekek számára készült feldolgozott gabonaalapú élelmiszerek és bébiételek (a feldolgozott kukoricaalapú élelmiszerek kivételével) | 20 |
| Csecsemők és kisgyermekekszámára készült feldolgozott kukoricaalapú élelmiszerek | 20 |

A T-2 valamint a HT-2 mikotoxinokra vonatkozó indikatív értékeket ebben az esetben is (mint a takarmányoknál) a 2013/165/EU bizottsági ajánlás fogalmazza meg. A 14. táblázat ezeket az értékeket mutatja három különböző felbontásban.

**14. táblázat:** A gabonafélék és a gabonatermékekben előforduló T-2, HT-2 toxinok indikatív értékei

| | **A T-2 és a HT-2 toxin együttes mennyiségének indikatív értékei (µg/kg), amelyek felett – többszöri kimutatás esetén bizonyosan – vizsgálatokat ajánlott végezni** |
|---|---|
| **1. Feldolgozatlan gabonafélék** | |
| Árpa (beleértve a sörárpát is) | 200 |
| Zab magburokkal | 1 000 |
| Búza, kukorica, rozs, más gabonafélék | 100 |
| **2. Közvetlen emberi fogyasztásra szánt gabonamagvak** | |
| Zab | 200 |
| Kukorica | 100 |
| Más gabonafélék | 50 |
| **3. Emberi fogyasztásra szánt gabonatermékek** | |
| Zabkorpa, pelyhesített zab | 200 |
| Gabonafélék korpája a zabkorpa kivételével, malomipari zabtermékek a zabkorpa és a pelyhesített zab kivételével, malomipari kukoricatermékek | 100 |
| Más malomipari gabonatermékek | 50 |
| Reggelire való gabonafélék, beleértve a formázott gabonapelyhet is | 75 |
| Kenyér (beleértve a kisméretű pékárut is), cukrászsütemény, keksz, gabonaszelet, tésztafélék | 25 |
| Csecsemőknek és kisgyermekeknek szánt gabonaalapú élelmiszerek | 15 |

# 3. ANYAG ÉS MÓDSZER

## 3.1. Mintavételezés, minta előkészítés

### 3.1.1. Minták

A kutatásomhoz használt minták száma Σ $n$=1019. Ebből a kísérletek első részében (4.1. fejezetben) használt minták a következők voltak: $n$=29 búza; $n$=29 kukorica; $n$=29 zab; $n$=29 árpa, összesen Σ$n$=116 minta került vizsgálatra és értékelésre.

Mintáim Magyarország különböző területeiről, Észak- és Dél-dunántúlról (Észak-dunántúli megyék: Győr- Moson- Sopron megye, Komárom - Esztergom megye, Vas megye; Dél-dunántúli megyék: Somogy megye, Tolna megye, Baranya megye) származtak, ezzel is próbáltam reprezentatív felmérést végezni.

A gabonák kiválasztásának szempontja az volt, hogy melyeket használnak Magyarországon leggyakrabban emberi élelmezésre és állati takarmányozásra. Ezek a kukorica, búza, árpa és a zab. A betakarítás 2013-ban történt. A 4.1. fejezethez tartozó adatok:

#### Magyarország 2013. évi időjárásának jellemzése

A *Fusarium* mikotoxinok, úgy, mint a deoxinivalenol, zearalenon, T-2 gyakori szennyezői a gabonáknak Közép - és Kelet Európában, de földünk számos más országában is jelentős élelmiszer-biztonsági veszélyt jelentenek (Placinta et al., 1999).

Vizsgálatom első lépése Magyarország időjárásának elemzése volt. Hazánkban a 2013-as évben a tavaszi időszak és ezen belül a március rendkívül csapadékosnak bizonyult, amely egyes gabonafajták, mint pl. a búza és a kukorica növekedése szempontjából fontos információ lehet (Cserháti, 2013). A csapadékmennyiségeket tekintve 1901-től számítva csupán az 1937 -es év márciusa előzte meg, amely nemcsak termés kieséseket, hanem élelmiszer-biztonsági kockázatokat is jelentett a *Fusarium* fertőzés tekintetében. Országos átlagban 87 mm csapadék hullott 2013 májusában. A legtöbb csapadékot a déli területek, valamint az Északi-középhegység és az Alföld északi térsége kapta, a Dunántúl és a keleti térség szárazabbnak bizonyult, a legkevesebb, 50 mm alatti összegeket az ország középső részén a Duna mentén, valamint északkeleten regisztrálták (Rajhonáné, 2013).

A 15. táblázatban az Országos Meteorológiai Szolgálat honlapján (kiadványok részben) elérhető *Légkör* című tudományos szakfolyóirat alapján összeállított magyarországi időjárási adatok találhatók a 2013-as évre vonatkozóan.

**15. táblázat:** Magyarország 2013. évi középhőmérsékleti értéke valamint éves átlagos csapadékmennyisége
(*„Az ország legnagyobb részén, 57 állomás homogenizált, interpolált adatai alapján”*. Adatok forrása: OMSZ, *Légkör* szakfolyóirat alapján összeállítva)

| Év | 2013 |
|---|---|
| Évi középhőmérséklet (°C) | 11,08 |
| Éves átlagos csapadékmennyiség (mm) | 649,6 |

A növények fejlődése valamint a betakarítási időpontok miatt fontos megvizsgálni a 2013-as időjárásunkat évszakonkénti felosztásban is. Ezt mutatja be a 16. táblázat, amelyben a 2013-as tavaszi, nyári, őszi és téli hőmérsékleti valamint csapadék mennyiségi adatokat emeltem ki a könnyebb összehasonlítás érdekében. Ebből az a következtetés vonható le, hogy a 2013-as évben az évszakok között a tavasz és a tél csapadékosabbnak bizonyult, mint a nyár és az ősz.

**16. táblázat:** Magyarországon *(„nagyobb részén”)* a középhőmérsékleti értékek és átlagcsapadék mennyiségek alakulása évszakonkénti lebontásban
(Adatok forrása: OMSZ, *Légkör* folyóiratok alapján összeállítva)

| **Átlaghőmérséklet (°C - között)** | **2013** |
|---|---|
| Tavasz | 10 - 11 |
| Nyár | 20,7 – 21,7 |
| Ősz | 11 - 12 |
| Tél | 0 - +1 |
| **Csapadékmennyiség (mm- között)** | **2013** |
| Tavasz | 200 - 250 |
| Nyár | 80 - 120 |
| Ősz | 90 - 270 |
| Tél | 150 - 300 |

A második részben (4.2. fejezetben) a mintákat két vizsgálati csoportra osztottam. Az első vizsgálati csoportban $n$=20: szója, lucerna pellet; a második vizsgálati csoportban $n$=20: búza, árpa, és kukorica mintákat használtam, $\Sigma n$=40.

Vizsgálataim harmadik részéhez (4.3. fejezetben) három különböző gyártótól származó (X, Y, Z) sertéstáp mintákat használtam $\Sigma n$=45. A tápokat különböző nem- és korcsoport szerint választottam, így malac- koca és kantápok kerültek vizsgálatra, $n$=5 tápfajta/gyártó. Gyártónként $n$=15 minta került a laboratóriumba.

A következő részben (4.4. fejezetben) $n$=305 búza; $n$=108 kukorica, $n$=179 búzaliszt, $n$=226 száraztészta minták mérési eredményeit értékeltem $\Sigma n$ = 818 (2008-2015).
A 4.4. fejezethez tartozó adatokat adatbányászat segítségével gyűjtöttem:

### Adatabányászat

A búza és kukorica minták Magyarország területéről származtak, a liszt és száraztészta minták hazai előállításúak voltak (adatforrás: hatósági országos adattáblázat). A mintaadatok hatósági adatbázisból (országos: több ezer különböző mintamátrixok mérési eredményeit tartalmazó

adattáblázat) származtak, amelyből az elemzésre került adatok meghatározott szempontok alapján kerültek kiválasztásra. Az adatbányászat (módszere: excel táblázat, különböző szűrési beállításokkal) során az adatokat az alábbi szempontok alapján választottam ki:

- mintavételi idő (évek szerinti lebontásban)
- minta területi származása (kizárólag Magyarország)
- vizsgálat célja: kizárólag hatósági mintavételből származó
- minta származása (kereskedelem, előállítás-gyártás, termelés)
- minta pontos megnevezése (kukorica, búza, száraztészta, búzaliszt)
- vizsgálati irány (DON mikotoxin)
- kapcsolódó adatok: mért koncentrációk (azonos mértékegység/vagy átváltás), mérési bizonytalanság, alkalmazott módszerek.

Az adatbányászat során a fent nevezett szempontok kapcsán jelentkező eltérések összehangolásának problémájával szembesültem, mint például: a különböző mikotoxinok kiválogatása, mértékegységük átváltása-összehangolása, a különböző vizsgálati célok közül kizárólag a monitoring programban-hatósági mintavételből származó minták kiszűrése az adathalmazból.

A kizárólag hatósági mintavételből származó adatokat a mikotoxinok speciális mintavétele (gócos elhelyezkedésük a tételekben) szempontjából tartottam fontosnak.

A minták DON toxin vizsgálatát akkreditált laboratóriumokban (Magyarországon) különböző vizsgálati módszerekkel végezték (ELISA: LOQ=222 µg/kg; LC-MS kapcsolt analitikai rendszer: LOQ= 40 µg/kg). A vizsgált mátrixok DON szennyezettségének kategóriáit továbbá az ezekhez tartozó minta számokat 2008-2015 között a 17. a-d) táblázatok tartalmazzák. A táblázatokban a magasabb DON szennyezettséget, valamint a magasabb mintaszámot bordó színnel, az alacsonyabb értékeket zöld színnel jelöltem. Az adatok elemzését SPSS statisztikai program segítségével végeztem, kereszttáblás módszerrel.

**17. a-d) táblázatok:** Búza, kukorica, búzaliszt, száraztészta DON szennyezettsége (µg/kg) valamint, az ezekhez tartozó mintaszámok megoszlása 2008-2015 közötti időszakban

a) BÚZA

**DON_buza_4csop * dátum Crosstabulation**

Count

| DON szennyezettség µg/kg | | dátum 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| DON_buza_4csop | LOQ alattiak | 7 | 10 | 6 | 5 | 14 | 82 | 22 | 13 | 159 |
| | LOQ-299 | 2 | 0 | 1 | 1 | 3 | 50 | 7 | 12 | 76 |
| | 300-1749 | 0 | 2 | 8 | 9 | 1 | 15 | 5 | 6 | 46 |
| | 1750-től | 2 | 0 | 4 | 7 | 0 | 6 | 0 | 5 | 24 |
| Total | | 11 | 12 | 19 | 22 | 18 | 153 | 34 | 36 | 305 |

b) KUKORICA

**DON_kukorica_4csop * dátum Crosstabulation**

Count

| DON szennyezettség µg/kg | | dátum 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| DON_kukorica_4csop | LOQ alattiak | 12 | 10 | 14 | 5 | 10 | 13 | 4 | 7 | 75 |
| | LOQ-299 | 1 | 2 | 1 | 1 | 4 | 0 | 2 | 0 | 11 |
| | 300-1749 | 1 | 0 | 4 | 3 | 1 | 0 | 3 | 3 | 15 |
| | 1750-től | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 3 | 1 | 7 |
| Total | | 14 | 12 | 19 | 12 | 15 | 13 | 12 | 11 | 108 |

c) LISZT

**DON_liszt_4csop * dátum Crosstabulation**

Count

| DON szennyezettség µg/kg | | dátum 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| DON_liszt_teszta_4csop | LOQ alattiak | 10 | 9 | 20 | 19 | 14 | 17 | 9 | 10 | 108 |
| | LOQ-299 | 5 | 3 | 4 | 7 | 0 | 4 | 2 | 2 | 27 |
| | 300-749 | 0 | 9 | 4 | 24 | 0 | 1 | 0 | 0 | 38 |
| | 750-től | 0 | 1 | 1 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 |
| Total | | 15 | 22 | 29 | 54 | 14 | 22 | 11 | 12 | 179 |

d) SZÁRAZTÉSZTA

**DON_teszta_4csop * dátum Crosstabulation**

Count

| DON szennyezettség µg/kg | | dátum | | | | | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | |
| DON_liszt_teszta_4csop | LOQ alattiak | 13 | 13 | 22 | 19 | 37 | 44 | 18 | 13 | 179 |
| | LOQ-299 | 3 | 1 | 5 | 1 | 1 | 2 | 5 | 0 | 18 |
| | 300-749 | 1 | 0 | 15 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 22 |
| | 750-től | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 |
| Total | | 17 | 14 | 49 | 26 | 38 | 46 | 23 | 13 | 226 |

A vizsgálati eredmények értékelése szempontjából (a nagyszámú adatmennyiségek további osztályozása miatt) négy koncentrációs értéktartomány kategóriát alakítottam ki mindegyik mátrixra vonatkozóan azért, hogy a különböző módszerekből adódó eltérő LOQ határokkal rendelkező eredményeket fel tudjam használni az összevont értékelés során, így magasabb mintaszámmal dolgozhattam, amely lehetővé teszi eredményeim széleskörű, megbízhatóbb elemzését. A külön módszerek szerinti (ELISA, LC-MS) adatértékelések során a kisebb mintaszámmal történő számolások torzíthatták volna az eredményeket. A kategóriák kialakításakor az adott mintára vonatkozó határértékeket is figyelembe vettem a különböző vizsgálati módszerek eltérő LOQ értékei mellett. Ezek a következők voltak:

Búza és kukorica esetében:

1. kategória: LOQ alattiak
2. kategória: LOQ- 299 µg/kg közöttiek/ LOQ körüli eredmények csoportja
3. kategória: 300-1749 µg/kg közöttiek
4. kategória: 1750 µg/kg felettiek

Liszt és száraztészta esetében:

1. kategória: LOQ alattiak
2. kategória: LOQ- 299 µg/kg közöttiek/ LOQ körüli eredmények csoportja
3. kategória: 300- 749 µg/kg közöttiek
4. kategória: 750 µg/kg felettiek

## Magyarországi időjárási adatok kategórizálása

Magyarország éves középhőmérsékleti értékeit, valamint éves átlagos csapadékösszegeit 2008-2015 között a 18. táblázatban foglaltam össze.

**18. táblázat:** Magyarország évi középhőmérsékleti értékeinek valamint éves átlagos csapadékösszegeinek alakulása, *„az ország legnagyobb részén, 57 állomás homogenizált, interpolált adatai alapján”(OMSZ)*
(adatok: OMSZ, *Légkör* folyóirat alapján összeállítva)

| Évek | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| évi közép-hőmérséklet (°C) | 11,5 | 5,8-13,1 között* | 10-11 között* | 10,9 | 11,4 | 11,08 | 11,95 | 11,72 |
| éves átlagos csap.menny. (mm) | 579 | 598 | 959 | 350 | 470,4 | 649,6 | 739,8 | 538,9 |

csap. menny.: csapadékmennyiség

*között: értéktartományok megadása

A részletesebb elemezések érdekében az éveken belüli évszakos időjárási adatokat is figyelembe vettem, ezeket a 19. táblázat mutatja be.

**19. táblázat:** Magyarországon *(„nagyobb részén”* OMSZ megfogalmazás*) a középhőmérsékleti értékek és átlagcsapadék mennyiségek alakulása évenkénti/évszakonkénti lebontásban

(adatok: OMSZ, *Légkör* folyóirat alapján összeállítva)

| **átlaghőm. (°C) között értéktartományok** | **2008** | **2009** | **2010** | **2011** | **2012** | **2013** | **2014** | **2015** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| tavasz | 9-13 | 10-14 | 8-14 | 11 - 12 | 10 - 12 | 10 - 11 | 12 - 13 | 11 - 12 |
| nyár | 20-22 | 19-23 | 20-22 | 20 - 22 | 20 - 22 | 20,7 – 21,7 | 20 - 21 | 22 - 23 |
| ősz | 10-12 | 8-13 | 8-11 | 10 - 11 | 11 - 13 | 11 - 12 | 11 - 12 | 11 - 12 |
| tél/adott év | -1 +3 | -1 +2 | -2 +1 | -2 0 | -5 +2 | 0 +1 | 2,58 | 2,1 |
| **csapadék-menny.(mm) között** | **2008** | **2009** | **2010** | **2011** | **2012** | **2013** | **2014** | **2015** |
| tavasz | 50-200 | 25-200 | 50-350 | 25-100 | 70 - 110 | 200 - 250 | 100 - 200 | 75 - 100 |
| nyár | 100-400 | 100-400 | 150-400 | 50-260 | 70 - 190 | 80 - 120 | 200 - 300 | 100 - 175 |
| ősz | 25-130 | 25-240 | 150-250 | 25-100 | 100 - 160 | 90 - 270 | 100-350 | 150-300 |
| tél/adott év | 30-110 | 100-225 | 100-200 | 50 - 175 | 90 - 180 | 150 - 300 | 50 - 200 | 133,9 |

átlag hőm.: átlaghőmérséklet

csapadékmenny.: csapadékmennyiség

*: valószínűsíthető az ország különböző területeiről származó eredmények miatt adtak meg értéktartományokat

Az időjárási adatokat a könnyebb átláthatóság érdekében (a táblázatokban látható értéktartományok miatt) kategórizáltam évszakokra bontva és évek szerint is. A kategóriákat a hőmérsékleti és csapadék mennyiségi besorolások alapján hoztam létre. Az évszakok jellemzésére 10 kategóriát alkottam, amelyeket a 20. táblázat mutat be.

**20. táblázat:** *Évszakok* (2008-2015) kategórizálása /jellemzése az évszakos hőmérsékleti és csapadék adatok alapján

| Évszakok kategóriái | Hőmérséklet | Csapadék | Rövid jelölés |
|---|---|---|---|
| 1. kategória | igen meleg | átlagos csapadékkal | IM ÁCS |
| 2. kategória | meleg | csapadékos | M CS |
| 3. kategória | átlagos hőmérséklet | kevés csapadékkal | ÁH KCS |
| 4. kategória | enyhébb hőmérséklet | kevés csapadékkal | E KCS |
| 5. kategória | igen meleg | csapadékos | IM CS |
| 6. kategória | átlagos hőmérséklet | átlagos csapadékkal | ÁH ÁCS |
| 7. kategória | meleg | átlagos csapadékkal | M ÁCS |
| 8. kategória | meleg | kevés csapadékkal | M KCS |
| 9. kategória | átlagos hőmérséklet | csapadékos | ÁH CS |
| 10. kategória | enyhébb hőmérséklet | átlagos csapadékkal | E ÁCS |

*Aláhúzott kezdőbetük az SPSS értékelésben használt rövidítések

A mennyiségekhez (19. táblázatban) tartozó kategória meghatározások csapadékértékek (évszakonkénti maximális értékek figyelembe vétele alapján/egyénileg kialakított: a meghatározás alapja Magyarország időjárásának változásai az elmúlt 20 év alapján, forrás: OMSZ adatok) esetében: 130 mm-ig=*kevés csapadék*, 131-299 mm=*átlagos csapadék*, 300-400 mm között=*csapadékos*. A mennyiségekhez tartozó kategória meghatározások hőmérsékleti értékek (évszakonkénti maximális értékek figyelembe vétele alapján) esetében:

- tavasz esetében: *átlagos hőmérséklet* <12 °C< *igen meleg*;
- nyár esetében: *meleg* <22 °C< *igen meleg*;
- ősz esetében: *átlagos hőmérséklet* <12 °C< *igen meleg*;
- tél esetében: *átlagos hőmérséklet* <2 °C< *enyhébb hőmérséklet*.

Az éves időjárások jellemzésére 6 kategóriát hoztam létre, amelyek a 21. táblázatban láthatók.

**21. táblázat:** *Éves* időjárási adatok (2008-2015) kategórizálása/jellemzése az éves hőmérsékleti és csapadék adatok alapján

| Évek kategóriái | Hőmérséklet | Csapadék | Rövid jelölés | Kategóriákhoz tartozó évek |
|---|---|---|---|---|
| 1. kategória | igen meleg | átlagos csapadékkal | IM ÁCS | 2008; 2009;2015 |
| 2. kategória | meleg | igen csapadékos | M ICS | 2010 |
| 3. kategória | meleg | száraz | M SZ | 2011 |
| 4. kategória | igen meleg | száraz | IM SZ | 2012 |
| 5. kategória | **meleg** | **csapadékos** | **M CS** | **2013** |
| 6. kategória | igen meleg | igen csapadékos | IM ICS | 2014 |

*Aláhúzott kezdőbetük az SPSS értékelésben használt rövidítések

A mennyiségekhez (18. táblázatban) tartozó fogalom meghatározások hőmérsékleti értékek (éves maximális értékek figyelembevétele alapján/egyénileg kialakított) esetében: 10-11,3 °C között=*meleg* kifejezést használtam; *meleg*<11,3°C<*igen meleggel* írtam le. A mennyiségekhez tartozó kategória meghatározások csapadék értékek (éves maximális értékek figyelembe vétele alapján) esetében: *száraz* <500 mm csapadék esetében; 500-600 mm között *átlagos csapadék*; 600-700 mm között *csapadékos*; 700 mm felett *igen csapadékosként* jellemeztem.

A táblázatban a hőmérséklet és csapadék leírások kezdőbetűit aláhúztam, mert a statisztikai elemzéshez csak a rövidítéseket (kezdőbetűket) használtam fel. Az SPSS statisztikai program segítségével létrehoztam a különböző évekhez (2008-2015 között) tartozó 6 kategóriába sorolt éves időjárás jellemzések szerinti mintaszám megoszlást/mátrixot, amelyeket a 22 a-b) táblázatok tartalmazzák. Külön színnel emeltem ki a magas mintaszámot és az ehhez tartozó időjárási viszonyok kezdőbetűit.

**22. a-b) táblázatok:** Éves (2008-2015 között) időjárási kategóriák/mátrix szerinti mintaszám eloszlások

**mátrix * éves Crosstabulation**

a) Count

| | | éves | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| időjárási kategóriák | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | Total |
| mátrix | búza | 59 | 19 | 22 | 18 | 153 | 34 | 305 |
| | kukorica | 37 | 19 | 12 | 15 | 13 | 12 | 108 |
| | liszt | 49 | 29 | 54 | 14 | 22 | 11 | 179 |
| | sz.tészta | 44 | 49 | 26 | 38 | 46 | 23 | 226 |
| Total | | 189 | 116 | 114 | 85 | 234 | 80 | 818 |

**mátrix * éves2 Crosstabulation**

b) Count

| | | éves2 | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| időjárási kategóriák | | 1: IM ÁCS | 6: IM ICS | 4: IM SZ | 5: M CS | 2: M ICS | 3: M SZ | Total |
| mátrix | búza | 59 | 34 | 18 | 153 | 19 | 22 | 305 |
| | kukorica | 37 | 12 | 15 | 13 | 19 | 12 | 108 |
| | liszt | 49 | 11 | 14 | 22 | 29 | 54 | 179 |
| | sz.tészta | 44 | 23 | 38 | 46 | 49 | 26 | 226 |
| Total | | 189 | 80 | 85 | 234 | 116 | 114 | 818 |

Ezután a különböző minta mátrixokhoz tartozó mintaszámok valamint ezek évszakok szerinti megoszlásának vizsgálatát hajtottam végre. Az elemzéseket a 23. a-d) táblázatok tartalmazzák, amelyben kiemeltem a magas mintaszámokat és az ezekhez tartozó hőmérséklet és csapadék leírások kezdőbetűit. (Az évszakonkénti jellemzések a minták mintavételi évének évszakos jellemzését szolgálják)

**23. a-d) táblázatok:** Mintamátrixok és az ezekhez tartozó mintaszámok évszakonkénti hőmérséklet és csapadék jellemzések (kezdőbetűk) megoszlása szerint

**mátrix * tavasz2 Crosstabulation**

a) Count

| | | tavasz2 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| időjárási kategóriák | | ÁH ÁCS | ÁH KCS | IM ÁCS | IM CS | Total |
| mátrix | búza | 153 | 76 | 57 | 19 | 305 |
| | kukorica | 13 | 38 | 38 | 19 | 108 |
| | liszt | 22 | 80 | 48 | 29 | 179 |
| | sz.tészta | 46 | 77 | 54 | 49 | 226 |
| Total | | 234 | 271 | 197 | 116 | 818 |

**mátrix * nyár2 Crosstabulation**

b) Count

| | | nyár2 | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| időjárási kategóriák | | IM ÁCS | IM CS | M ÁCS | M CS | M KCS | Total |
| mátrix | búza | 36 | 12 | 40 | 64 | 153 | 305 |
| | kukorica | 11 | 12 | 27 | 45 | 13 | 108 |
| | liszt | 12 | 22 | 68 | 55 | 22 | 179 |
| | sz.tészta | 13 | 14 | 64 | 89 | 46 | 226 |
| Total | | 72 | 60 | 199 | 253 | 234 | 818 |

**mátrix * ősz2 Crosstabulation**

c) Count

| | | ősz2 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| időjárási kategóriák | | ÁH ÁCS | ÁH CS | ÁH KCS | IM ÁCS | Total |
| mátrix | búza | 172 | 70 | 33 | 30 | 305 |
| | kukorica | 32 | 23 | 26 | 27 | 108 |
| | liszt | 51 | 23 | 69 | 36 | 179 |
| | sz.tészta | 95 | 36 | 43 | 52 | 226 |
| Total | | 350 | 152 | 171 | 145 | 818 |

**mátrix * tél2 Crosstabulation**

d) Count

| időjárási kategóriák | | tél2 ÁH ÁCS | ÁH CS | E ÁCS | E KCS | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|
| mátrix | búza | 71 | 153 | 70 | 11 | 305 |
| | kukorica | 58 | 13 | 23 | 14 | 108 |
| | liszt | 119 | 22 | 23 | 15 | 179 |
| | sz.tészta | 127 | 46 | 36 | 17 | 226 |
| Total | | 375 | 234 | 152 | 57 | 818 |

### 3.1.2. Mintavétel

A vizsgálandó tételek mikotoxin szennyezettségének objektív megítéléséhez a mintavételezés helyes végrehajtása alapvető fontosságú, a mikotoxinok gócos eloszlása miatt. A mintavétel (mindegyik dolgozat/eredmények részhez tartozó) a magyar hatósági mintavételezési eljárás alapján történt, amelyben gabonafélék és gabonakészítményekre vonatkozóan az 519/2014/EU uniós rendelet tartalmazza a módosításokat. A rendelet előírja a hatósági mintavételi módszereket és az ezekhez tartozó mennyiségeket valamint a Bizottság élelmiszerek mikotoxin-szennyezettségének hatósági ellenőrzéséhez használandó mintavételi és elemzési-meghatározási módszerek megállapításait. A fent említett szabályozás a 401/2006/EK rendelet módosítása, amely a mintavételezést gabonafélék és gabonakészítmények esetében két csoportra osztotta a mintázott tétel mennyisége alapján. Két főcsoport állapítható meg a tétel tömege, részminta számok és az egyesített mintatömegek tekintetében: az 50 tonnánál nagyobb valamint az 50 tonnánál kisebb tételek mintázása (**M2.4.**, **M2.5.**, módosításokat tartalmazza: **M2.6.**). Vizsgálataim során a részminták száma 3 és az egyesített mintatömeg 1 kg volt (az M2.5. szerint).

### 3.1.3. Minta előkészítés

Vizsgálataimat takarmánygyártó cég takarmányvizsgáló laboratóriumában végeztem.

A mintákat nem volt szükséges szárítani. A bekerült minták előkészítése az alábbiak szerint történt: darálás (Tecator, Sweden), homogenizálás és tárolás 4 °C-on. A vizsgálati mintarészeket 1,0 mm szemcseméretű darálón daráltam finom őrleményre.

A minta előkészítés DON, F-2, T-2 mikotoxinokra a gyártó által mellékelt útmutatás szerint történt (R-Biopharm).

DON mikotoxin esetében bemértem 5 gramm mintát (őrölt, elegyített) zárható üvegtégelybe, majd 100 ml desztillált vízzel 30 percig rázógépen (Tecator) erősen kevertettem az oldatot. Az elegyet üvegtölcsér és Whatman 1-es szűrön leszűrtem 100 ml-es Erlenmeyer lombikba, a leszűrt elegyből 50 µl-t használtam a teszthez: RIDASCREEN® FAST DON.
F-2 és T-2 mikotoxinok esetében azonos a minta előkészítési protokoll, vagyis ugyanabból a munkaoldatból használtam a tesztekhez. Bemértem 5 gramm mintát, amelyet 100 ml-es lombikba töltöttem és 25ml 70%-os MeOH adtam hozzá, majd 30 percig rázógépen erősen kevertettem az oldatot. Az elegyet üvegtölcsér és Whatman 1-es szűrön leszűrtem 100 ml-es Erlenmeyer lombikba. A szűrletből 1 ml-t vettem ki, melyhez 1ml desztillált vizet adtam. Ebből a higított mintából 50 µl-t használtam a tesztekhez: RIDASCREEN® FAST Zearalenon, RIDASCREEN® FAST T-2. Vizsgálataim során párhuzamos ($n$=2) mintaelőkészítést végeztem.

## 3.2. Mérési módszer

### 3.2.1. ELISA módszerek

Az ELISA mozaikszó, amely az angol elnevezés kezdőbetűiből tevődik össze. Az enzimhez kapcsolt immunszorbens vizsgálatok (ELISA) olyan, szilárd fázison lejátszódó színreakciók, ahol a reagensek műanyag felülethez vannak kötve, és a reakciót enzimmel kapcsolt antitest segítségével követjük nyomon. A módszer igen érzékeny és a reagenseket gazdaságosan lehet tömegvizsgálatokra felhasználni.
Az ELISA az immunológiai módszerek csoportjába tartozik, amely antigén és az ellenük termelt antitest reakcióján alapul. Az antigének nagy polimer molekulák, amelyek tulajdonsága, hogy immunválaszt váltanak ki. Legerősebb antigének közé tartoznak a fehérjék, glikoproteinek, lipoproteinek és nukleoproteinek, de a poliszacharidok, lipopoliszacharidok és nukleinsavak is ellenanyag-termelést indukálnak (Deák et al., 2006).

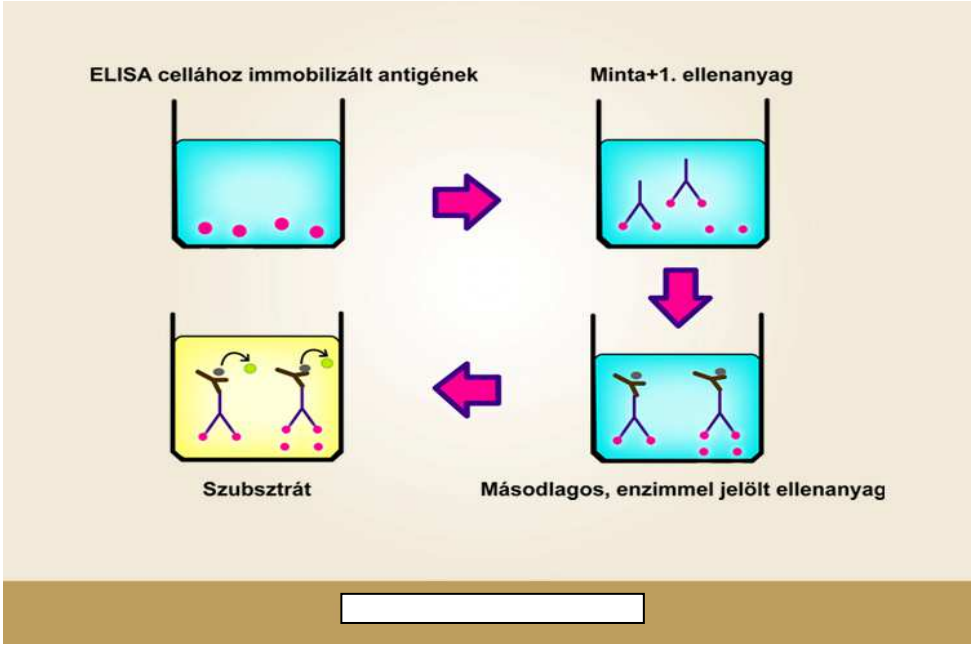
Az ELISA mérési módszer felosztása:

- Direkt eljárás
- Indirekt eljárás

A direkt eljárásnál az enzimet az antitesthez kapcsolják, míg az indirekt eljárásnál az enzim olyan molekulához kapcsolódik, amely az IgG-t felismeri. Mindkét csoporton belül többféle változat lehetséges.

### 3.2.1.1. Indirekt kompetitív ELISA módszer

Az általam használt kitek eljárásai az indirekt kompetítiv ELISA módszeren alapultak. Indirekt kompetitív ELISA módszer esetében a szendvics ELISA-val ellentétben az antigént kötik a mikrotiter lemezhez. Ezt követően olyan oldatot visznek fel a lemezre, mely korlátozott mennyiségű első ellenanyagot és a vizsgálandó mintát tartalmazza. A vizsgálandó mintában található antigén verseng a lemezhez kötött antigénnel az ellenanyag kötőhelyeiért. A meg nem kötött ellenanyag kimosása után a lemezen lévő antigén-antitest komplexek detektálása egy második, az első ellenanyagra specifikus és enzimmel kapcsolt ellenanyag segítségével történik. A felvitelt és a mosást követően a reakcióelegyhez adják a konjugált enzim szubsztrátját. Az enzimreakció eredményeképpen színes termék keletkezik, melynek intenzitása fotométerrel mérhető. Ebben az esetben a mért abszorbancia az adott komponens koncentrációjával fordítottan arányos. A 6. ábra az indirekt kompetitív ELISA vizsgálat lépéseit, az enzimes folyamatot mutatja be.




**6. ábra:** Indirekt kompetitív ELISA módszer mintaelőkészítés fázisai.
(forrás: http://oktatas.ch.bme.hu/oktatas/konyvek/anal/MSc-Elvalasztastechnika/MSc-2011/Elvtech_bio.pdf)

### Indirekt kompetitív ELISA kitek

A DON kit: RIDASCREEN® FAST DON (Art. No.: R5902, 48 wells), standard oldatok: 0 - zero standard: mikotoxint nem tartalmazó, vak oldat - mg/kg, 0,222 mg/kg, 0,666 mg/kg, 2 mg/kg, 6 mg/kg.

A zearalenon kit: RIDASCREEN® FAST Zearalenon (Art. No.: R5502, 48 wells) standard oldatok: 0 - zero standard: mikotoxint nem tartalmazó, vak oldat - µg/kg , 50 µg/kg, 100 µg/kg , 200 µg/kg, 400 µg/kg.

A T-2 kit: RIDASCREEN® FAST T-2 (Art. No.: R5302, 48 wells) standard oldatok: 0 - zero standard: mikotoxint nem tartalmazó, vak oldat - µg/kg, 50 µg/kg, 100 µg/kg, 200 µg/kg, 400 µg/kg.
Minőségi tanúsítvány mellékelve volt mindegyik kithez. A gyártó/forgalmazó adatai: R-Biopharm DG, Darmstadt, Németország. Méréseimhez Metertech - 500 spektrofotométert (ELISA Reader) használtam, mérési abszorbancia 450 nm. A módszerek validálásához szükséges standard oldatok: Sigma-Aldrich Chemie GmbH minőségűek voltak (Steinheim, Németország). Az eredmények értékelése speciális szoftver segítségével történt: RIDA® SOFT Win (Art. No.: Z9999).

### 3.3. Statisztikai módszerek

A statisztikai módszerek a megszerzett ismereteinket, információinkat, mérési eredményeinket értelmezik. A különböző statisztikai programcsomagok biztosítják számunkra adataink gyors és sokoldalú vizsgálatát. A vizsgálat tárgyát képező jelenségeket a statisztikában sokaságnak nevezzük. A sokaságot többféleképpen csoportosíthatjuk, az egységek jellemzői határozzák meg milyenségüket.
Mérési eredményeim statisztikai analíziseit RStudio (Version 0.99.447) valamint SPSS (IBM SPSS Statistics V24) programcsomagok segítségével végeztem.
Az R program fejlesztése a SCHEME és az S nyelvekre építve 1993-ban indult az Auckland-i Egyetemen Ross Ihaka és Robert Gentleman vezetésével. Az R-program előnye, hogy ingyen, szabadon hozzáférhető és számtalan „felhasználóbarát” csomagot tartalmaz, amelyek egyszerű és gyors hozzáférést engednek a legbonyolultabb statisztikai eljárásokhoz is.
Az SPSS program is hasonlóan az előbb említett RStudio-hoz lehetővé teszi a felhasználók számára az adatok gyors és sokoldalú vizsgálatainak lehetőségét.

A matematika tudomány felhasználása a természettudományi kutatásokhoz elengedhetetlenül fontos és itt nemcsak a statisztikai analízis része. A nagy számok törvénye szerint tapasztalati tény, hogy ha elegendően nagyszámú független véletlen hatás összegződik, akkor az egyes véletlentől függő mennyiségek ingadozásai bizonyos mértékig kiegyenlítődnek, és így az összeg értéke elég nagy pontossággal előre látható.

A fent említett tapasztalati tényt írják le az úgynevezett nagy számok törvényei, amelyek közül Bernoulli törvénye azt mondja ki, hogy „*egy esemény relatív gyakorisága és valószínűsége közti eltérés tetszőleges nagy biztonsággal tetszőleges kicsi lesz, ha a kísérletek számát minden határon túl növeljük*” (Obádovics, 1974).

Vizsgálataimhoz használt összes minták száma: $\Sigma\ n=1019$ igazolhatja kutatásom reprezentatív jellegét.

### 3.4. Módszer összehasonlítás

A mérési módszerek összehasonlítása a validálás egyik alapeleme, a validálást az MSZ EN ISO 9000:2015 szabvány határozza meg. Jelentése érvényesítés/jóváhagyás: *„annak megerősítése objektív bizonyíték szolgáltatásával, hogy az adott szándék szerinti használathoz vagy alkalmazáshoz előírt követelmények teljesültek”*.

A vizsgáló laboratóriumokkal szemben elvárás, hogy megfelelő minőségű, megbízható, összevethető mérési eredményeket szolgáltassanak.

A laboratóriumokban végzett mérések minőségbiztosításának alapeleme annak igazolása, hogy az adott mérési módszer az analitikai cél megoldására alkalmas. Az igazolás dokumentálja az adott méréssel kapott analitikai eredmények hitelességét. Egy módszer validálása bizonyítja, hogy a módszer teljesítményjellemzői kielégítik az analitikai méréseredmények tervezett felhasználására vonatkozó követelményeket. Teljesítményjellemzők:

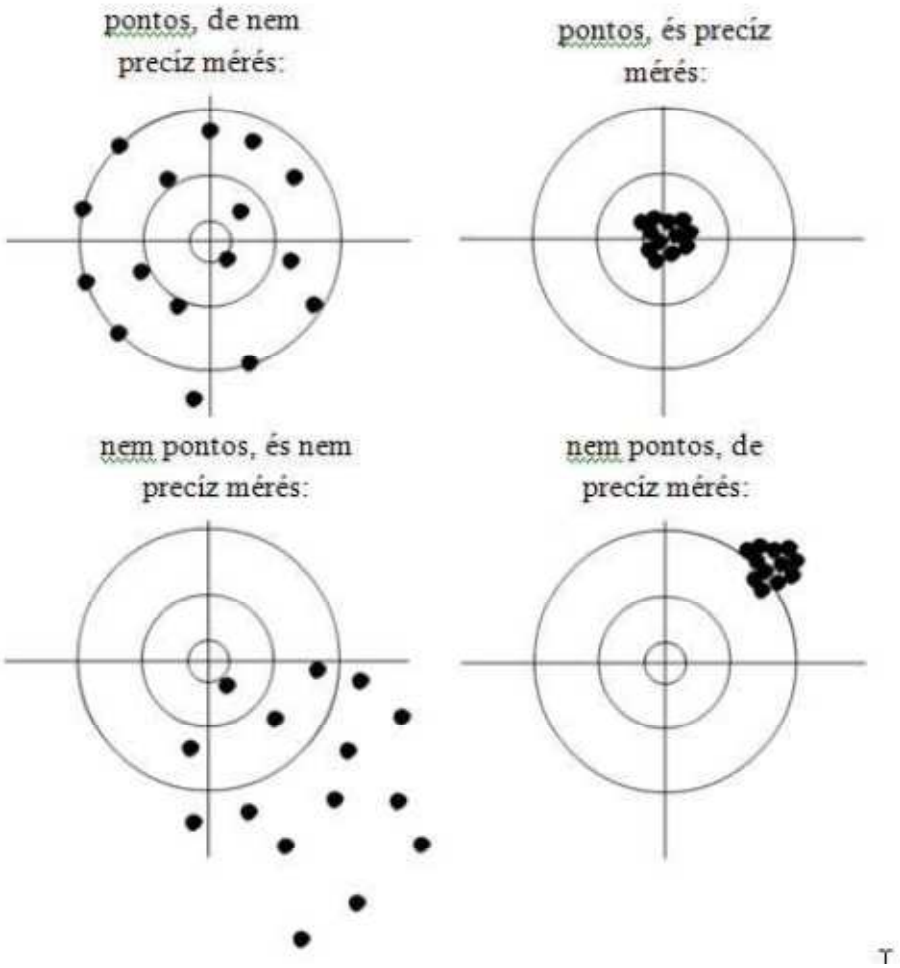
- szelektivitás és specifitás,
- érzékenység,
- linearitás, lineáris tartomány,
- kimutatási határ (LOD),
- robosztusság,
- merevség,
- pontosság,
- precizitás-ismételhetőség,

- reprodukálhatóság.

A teljesítményjellemzők közül a kimutatási határt (LOD) szeretném kiemelni, mint az egyik szükséges jellemzőt. Jelentése a meghatározandó komponensek azon legkisebb koncentrációja, amelyeket független vak minták ismételt elemzésével állapíthatunk meg.
Megállapodás szerint az a koncentráció, amelyre adott válaszjel értéke ($J_{KH}$) a vak minta közepes válaszjele (*J vak*) plusz a tapasztalati szórás háromszorosa, vagyis:

$$J_{KH} = J_{vak} + 3 * SD_{vak}$$

A vak mintához adjunk a meghatározandó komponensből a becsült kimutatási határ 3-5-szörösének megfelelő mennyiségben, és mérjünk párhuzamosokat, majd számítsuk ki a tapasztalati szórást, melyet megszorozva a *t* Student-faktorral (99% konfidenciaintervallumhoz és *n-1* szabadságfokhoz tartozó érték) kapjuk a kimutatási határt.
A pontosság és precizítás fogalma a klasszikus célbalövési példával mutatható be (7. ábra).




**7. ábra:** A pontosság és precizitás illusztrálása. (A kép forrása: Analitikai módszerek validálása, érvényesítése /Horváthné, 2008)

A céltábla közepe a valódi értéket, a lövedékek a mérési adatokat jelölik. Amennyiben a mérési hiba kicsi, akkor a lövedékek a céltábla közpe körül helyezkednek el.

A közbenső vagy átmeneti precizítás (intermediate precision) a közbenső időtávú napok, más vizsgáló személy vagy másik műszeren végzett mintaismétléseket jelent. Korábban ennek meghatározása a merevség vizsgálatához tartozott.

### 3.4.1. LOD értékek meghatározása

A méréseimhez használt ELISA kitek mikotoxinok kvantitatív analízisére való megfelelőségét jóváhagyták az *AOAC* (Association of Official Chemists) (*AOAC* International/Research Institute – *PTM*/Performance Tested Methods), *FGIS* (Federal Grain Inspection Services - program of the Grain Inspection) valamint az *USDA/GIPSA* (Packers and Stockyards Administration of the United States Department of Agriculture). Továbbá számos nemzetközi tudományos publikációban állapították meg az ELISA módszer (R-

Biopharm ELISA kitek) mikotoxinok mennyiségi meghatározására való megfelelőségét (Pleadin et al., 2013, 2017).

A DON toxin-mérési módszer validálása a gyártó által tanúsítványban leírt gabonákra és más növényi alapanyagokra: kukoricára, búzára, árpára, malátára, búzakorpára, cirokra, búzapehelyre, búzalisztre, szójalisztre, szójapehelyre, lucernára, valamint gabona alapú keveréktakarmányokra történt. A gyártó által megadott kimutatási határ (LOD) <0,2 mg/kg (gyártói tanúsítványban így meghatározott), a mennyiségi meghatározás határa (LOQ) 0,222 mg/kg volt.

Az F-2 toxin mérésimódszer validálása gabonákra - kukoricára, búzára, árpára, zabra, - valamint keveréktakarmányokra történt. A gyártó által megadott kimutatási tartomány 17 - 41 µg/kg, a mennyiségi meghatározás határa LOQ: 50 µg/kg volt.

A T-2 toxin mérésimódszer validálását kukorica, valamint sertés és baromfi tápokkal, mint keveréktakarmányokkal végezték. A gyártó által megadott LOD: <20 µg/kg, LOQ: 50 µg/kg volt. A kitekhez mellékelt tanúsítványok szerint megadott detektálási/kimutatási határokat és a mennyiségi meghatározás alsó határait a 24. táblázat foglalja össze.

**24. táblázat:** A gyártó által (R-Biopharm) megadott alsó kimutatási és mérési határok

| Teszt típus | Kimutatási határ (LOD) | A mérés alsó határa (LOQ) |
|---|---|---|
| DON teszt | < 200 µg/kg | 222 µg/kg |
| F-2 teszt | 17- 41 µg/kg | 50 µg/kg |
| T-2 teszt | < 20 µg/kg | 50 µg/kg |

LOD: A detektálás alsó határa/kimutatási határ *(Limit of detection)*
LOQ: A mennyiségi mérés alsó határa *(Limit of quantification)*

A táblázatban szereplő LOQ a meghatározási határ, amely a mennyiségi mérés alsó határa. Az a legkisebb koncentráció, amely még „elfogadható” pontossággal és precizitással határozható meg. Az LOQ a kimutatási/detektálási határból is becsülhető, általában az LOD 5-10-szeresét szokták ilyen esetben venni.

Elvégeztem a mérési módszerek LOD értékeinek meghatározását, amelynek során mindegyik mikotoxin kimutatási határának meghatározásához $n$=10 búza mintát (vak/blank) használtam, a gyártó által leírt minta és mérésre való előkészítés szerint.

Erre azért volt szükség, mert LOD feletti koncentrációs eredményeket (minden mintámban kimutatási határ felett voltak a koncentrációs értékek) is felhasználtam az értékelés és

adatelemzés során. Módszertana: >LOD =LOQ értéken számolva és ábrázolva mikotoxinonként.

Az LOD kalkulációja a vizsgált minták abszorbanciája alapján a kalibrációs görbék segítségével számított koncentrációs átlagértékéből és az ezekhez tartozó szórás (SD=standard deviation) értékekből történt.

$$LOD = Számított\ átlagkoncentráció\ (blank) + 2 \times SD\ (mérések)$$

A visszanyerési százalék meghatározását három különböző koncentráció szinten végeztem el: 50, 100, 200 µg/kg (erősített szint).

A kontroll búza mintáimhoz adagoltam az általam készített mikotoxin standard munkaoldatból (500 µg/l) úgy, hogy beállítsam a becsült három koncentrációszintet. Minden koncentráció esetén és alkalmanként hat ismétléssel dolgoztam.

$$Visszanyerés\ (recovery\%) = 100 \times mért\ tartalom / erősített\ szint$$

A köztes pontosság (intermediate precision), helyesség meghatározása érdekében ugyanezeket a lépéseket még két alkalommal megismételtem. Összesen 3 alkalommal mértem le minden mikotoxint, minden koncentrációban. A vizsgálatok két hónap alatt zajlottak le, két különböző vizsgáló személy bevonásával, ugyanazokkal az analitikai feltételekkel, ugyanazon laboratórium, ugyanazon felszerelését/eszközöket használva. A precizitás a mérés véletlenszerű változásait jellemző adat, amely többek között a laboratóriumon belüli variabilitással is leírható.

$$H = Xmért - Xref$$

Ahol a *H* a helyesség, pontosság, ami egyenlő a mért és a referencia érték különbségével, ha rendelkezésre áll *CRM* (hiteles vagy tanúsított referencia minta), ha nem áll rendelkezésre, akkor visszanyerési kísérlet alapján határozzuk meg, mint a mi esetünkben.

Mindegyik vizsgált mikotoxin (DON, ZEN, T-2) LOD paramétereinek meghatározásához búza mintákat használtam. Eredményeimet a 25. táblázatban foglaltam össze.

**25. táblázat:** Meghatározott LOD értékek

| Mikotoxin | LOD (µg/kg) | Adagolt (spiked) koncentráció (µg/kg) | Visszanyerés, (recovery %) | Átlag visszanyerés (%) | CV (%) | Köztes pontosság (%) | CV (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| DON | 13 | 50 | 92,0 | 92,3 | 4,3 | 92,4 | 6,0 |
| | | 100 | 95,6 | | 5,1 | 96,5 | 5,9 |
| | | 200 | 89,4 | | 5,7 | 87,8 | 6,2 |
| ZEN | 17 | 50 | 85,3 | 89,3 | 3,9 | 86,9 | 6,8 |
| | | 100 | 92,5 | | 4,4 | 90,2 | 6,5 |
| | | 200 | 90,1 | | 5,7 | 93,4 | 6,8 |
| T-2 | 12 | 50 | 97,5 | 97,3 | 3,4 | 96,9 | 7,0 |
| | | 100 | 98,1 | | 5,4 | 94,5 | 7,1 |
| | | 200 | 96,3 | | 5,5 | 93,7 | 6,7 |

LOD: A kimutatás/detektálás alsó határa *(Limit of detection)*
CV: Variációs koefficiens *(Variation coefficient)*

LOD érték DON mikotoxinra 13 µg/kg, ZEN toxinnál 17 µg/kg, T-2 esetében 12 µg/kg volt. A visszanyerés (recovery%) 85,3-98,1% között alakult (variációs koefficiens (CV): 3,4-5,7%). A köztes pontosság 86,9- 96,9% volt (CV: 5,9- 7,1%).

Az élelmiszer-ellenőrzés céljára használt megerősítő analitikai módszereknek a 882/2004/EK rendelet III. mellékletének 1. és 2. tételében foglalt rendelkezéseknek kell megfelelniük.

A megerősítő módszerekre vonatkozó egyedi követelményeket a 401/2006 EK rendelet „*Az élelmiszerek mikotoxintartalmának hatósági ellenőrzéséhez használandó mintavételi és elemzési módszerek megállapításáról*” határozza meg. A 26, 27, 28-as táblázatok a rendelet által megfogalmazott alkalmassági kritériumokat mutatják be DON, zearalenon valamint T-2 és HT-2 mikotoxinokra vonatkozóan.

**26. táblázat:** Alkalmassági kritérium deoxinivalenolra

| Mennyiség µg/kg | Deoxinivalenol | | |
|---|---|---|---|
| | $RSD_r$ % | $RSD_R$ % | Visszanyerés % |
| <100 – ≤ 500 | ≤ 20 | ≤ 40 | 60 – 110 |
| > 500 | ≤ 20 | ≤ 40 | 70 – 120 |

*$RSD_r$: relatív szórás: a megismételhetőségi körülmények között kapott eredményekből kell számítani*

*$RSD_R$: relatív szórás: a reprodukálhatósági körülmények között kapott eredményekből kell számítani*

**27. táblázat:** Alkalmassági kritérium zearalenonra

| Mennyiség µg/kg | Zearalenon | | |
|---|---|---|---|
| | $RSD_r$ % | $RSD_R$ % | Visszanyerés % |
| ≤ 50 | ≤ 40 | ≤ 50 | 60 – 120 |
| > 50 | ≤ 25 | ≤ 40 | 70 - 120 |

**28. táblázat:** Alkalmassági kritérium T-2 és HT-2 toxinra egyenként

| Mennyiség µg/kg | T-2 és HT-2 toxin egyenként | | |
|---|---|---|---|
| | $RSD_r$ % | $RSD_R$ % | Visszanyerés % |
| 15 – 250 | ≤ 30 | ≤ 50 | 60 – 130 |
| > 250 | ≤ 25 | ≤ 40 | 60 – 130 |

Méréseim esetében a visszanyerés elfogadható volt. A T-2 kitre vonatkozóan azonban a HT-2 toxin keresztreakcióját figyelembe kell venni, és a gyártó által meghatározott keresztreakcióval számolni kell. A teszt folyamatokat, lépéseket a gyártó/forgalmazó által mellékelt útmutatás szerint hajtottam végre (R-Biopharm, D.G.).

### 3.4.2. Mérési eredmények ellenőrzése HPLC módszerrel

#### 3.4.2.1. Minták előkészítése folyadékkromatográfiához

DON mikotoxin mérésre történő minták (búza/ELISA módszer LOD értékeinek meghatározásához használt minták) előkészítése során, 50 gramm mintát mértem be kis tartályba. Hozzáadtam 10 gramm PEG 8000-et (VICAM) és 200 ml desztillált vizet. Nagy fordulatszámon kevertettem, majd redős, ezután finom szűrőn szűrtem a mintáimat. A

szűrletből vittem fel az immunaffinitás oszlopra 2 ml-t. A vákuumot úgy állítottam be, hogy 1-2 csepp/sec legyen az áramlási sebesség. A szennyeződéseket az oszlopról 10 ml desztillált vizes mosással távolítottam el. Az oszlopot levegő átszívatással megszárítottam. A toxin leeluálása az oszlopról 2 ml HPLC tisztaságú metanollal történt. Az eluátumot szárazra pároltam maximum 50°C –on, nitrogén áramban. A párlási maradékot 300 µl eluensben feloldottam, és ebből injektáltam a készülékbe.

Zearalenon és T-2 mikotoxinokra történő minta előkészítés során 20 gramm mintát mértem be. Majd 150 ml extrahálószerrel homogénre összeráztam, melyből homogén szuszpenziót kaptam. A felhasznált extrahálószer 75 térfogatrész metanol, 25 térfogatrész desztillált víz volt. Ezután a szuszpenziót 1 órán keresztül rázógépen rázattam. Majd az extraktumot leszűrtem, 30 ml extraktumot foszfát puffer sóoldattal (PBS) hígítottam. Ebből a higított extraktumból 20 ml-t üveg mikroszálas szűrön, enyhe vákuum alatt átszűrtem. Immunaffin oszlopos tisztítási művelettel folytattam, melyben előkondicionáltam a kolonnát, 20 ml foszfát puffer sóoldattal (PBS), 3-5 ml/perc sebességet használva. 50 ml szűrt, és hígított extraktumot átáramoltattam a kolonnán. Áramlási sebesség 1-2 csepp/másodperc. Az extraktum áthaladása után mostam a kolonnát. Ezek után elkészítettem a vizsgálati oldatokat, amelyet a HPLC készülékbe injektáltam.

#### 3.4.2.2. Mikotoxinok folyadékkromatográfiás meghatározása

A folyadékkromatográfiás módszer egy pontos, megbízható analitikai módszer az élelmiszerekben, és élelmiszeripari alapanyagokban, takarmányokban előforduló deoxinivalenol, zearalenon és T-2 mikotoxinok azonosítására és mennyiségi meghatározásukra.

A módszer elve DON mikotoxinra vonatkozóan, hogy a homogenizált mintából a mikotoxint desztillált vízzel szükséges extrahálni Az extraktumot szűrés után immunaffinitás oszlopon tisztítottam. Az anititestek a toxint specifikusan megkötötték. Vizes mosással a szennyeződéseket eltávolítottam. A toxint az oszlopról metanollal eluáltam, bepároltam és eluensben oldottam. A meghatározás HPLC - UV detektálással történt. Knauer HPLC rendszert használtam: UV-detektor: K-2600; DON toxin meghatározási hullámhossza 218 nm; használt oszlop: Lichrosphare RP-18 oszlop (200 x 4 mm 5µm); eluens: desztillált víz/ acetonitril (9:1); áramlási sebesség 1ml/perc; injektált térfogat 20 µl. Kalibráló oldat készítésekor az alapoldat koncentrációja 200 µg/ml volt. Az alapoldatból negyvenszeres

hígítással munkaoldatot készítettem, melynek koncentrációja 5 µg/ml volt. A munkaoldatból készítettem el az 5 pontos kalibrációt.

Módszer elve zearalenon és T-2 mikotoxinokra vonatkozóan, hogy a vizsgálati mintákból a mikotoxinokat szerves oldószerrel extraháljuk. Az oldószeres extraktum foszfát puffer sóoldattal hígítva egy vizes extraktumot adott, amelyet az adott mikotoxinokra specifikus antitestet tartalmazó immunaffin oszlopon alkalmaztam. A meghatározandó anyagot az oszlopon izoláltam, tisztítottam, koncentráltam, és eltávolítottam az antitestekről eluáló oldószerrel. A meghatározást nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiával, fluoreszcens detektálással végeztem: Extraháló oldat: metanol/desztillált víz, 75+25 térfogatrésszel; mosó oldat metanol/PBS, 15+85 térfogatrész; injektáló oldat a HPLC analízishez metanol/desztillált víz 50+50 térfogatrész; HPLC mozgófázisa metanol/desztillált víz 75+25 térfogatrész. A HPLC üzemeltetési körülményei: a mobilfázis áramlási sebessége 1ml/perc; fluoreszcens emissziós detektálási hullámhossz 446-450 nm; fluoreszcens gerjesztési detektálási hullámhossz 274-275 nm; injektált térfogat 100 µl; HPLC kolonna Phenomenex ODS3 Prodigy.

A vizsgálatok elvégézését követően megállapítottam, hogy a HPLC módszerekkel történő összemérés során az ELISA tesztekkel meghatározott mérési értékek és a HPLC mérési eredmények eltérései ±R (relatív) 10% - on belül alakultak. Az összeméréssel bizonyított a használt R-Biopharm mikotoxin kitek mikotoxinok (DON, F-2, T-2) mennyiségi meghatározására való alkalmassága.

Munkám elméleti alapja Pleadin és munkatársai (2013) által publikált ELISA (R-Biopharm kitek) LOD meghatározás/validációs protokol volt. Számos tudományos eredmény bizonyította (Sforza et al., 2006; Krska et al., 2008; Pleadin et al., 2013, 2017), hogy az ELISA mikotoxin vizsgálati módszerek hatékonyak, gyorsak, alkalmasak mikotoxinok mennyiségi meghatározására azoknál a mátrixoknál, amelyek esetében a validálások ezt bizonyították.

# 4. EREDMÉNYEK

## 4.1. Gabonák mikotoxin szennyezettsége

A vizsgált *n*=116 gabona minták mérési értéktartományok szerinti százalékos (%) megoszlását és a mintaszámokat a 29. táblázat mutatja be. A mennyiségi mérés alsó határa DON esetében LOQ= 222 µg/kg, ZEN mérésekor LOQ= 50 µg/kg, T-2 toxin esetében LOQ= 50 µg/kg értéknek adódott.

**29. táblázat:** Feldolgozatlan, tisztítatlan gabonaminták DON, ZEN, T-2 mikotoxin szennyezettségének mérési értéktartományaihoz tartozó minták megoszlásai

| Mikotoxin | Gabona | LOQ µg/kg | LOD-LOQ közötti minták százalékos megoszlása (%) (*n*) | >LOQ minták százalékos megoszlása (%) (*n*) |
|---|---|---|---|---|
| DON | Kukorica | 222 | 14 (*n*=4) | 86 (*n*=25) |
| | Búza | | 28 (*n*=8) | 72 (*n*=21) |
| | Árpa | | 52 (*n*=15) | 48 (*n*=14) |
| | Zab | | 73 (*n*=21) | 27 (*n*=8) |
| ZEN | Kukorica | 50 | 59 (*n*=17) | 41 (*n*=12) |
| | Búza | | 83 (*n*=24) | 17 (*n*=5) |
| | Árpa | | 100 (*n*=29) | 0 |
| | Zab | | 100 (*n*=29) | 0 |
| T-2 | Kukorica | 50 | 45 (*n*=13) | 55 (*n*=16) |
| | Búza | | 69 (*n*=20) | 31 (*n*=9) |
| | Árpa | | 86 (*n*=25) | 14 (*n*=4) |
| | Zab | | 90 (*n*=26) | 10 (*n*=3) |

*n*=mintaszám

A táblázat alapján megállapítható, hogy mind a 116 mintában kimutatási határ felett (>LOD) voltak a mikotoxin értékek ELISA módszert használva, a kalibrációs görbék $R^2$: >0.990 alakultak. A kalibrálás lineáris, ha a korrelációs együttható ($R^2$) magasabb, mint 0,990.

A mérési eredményeket a 30. táblázat foglalja össze, amely a három mikotoxin esetében a különböző gabonákra vonatkozó átlagkoncentrációs értékeket, a szórást (standard deviation) valamint a minimum és mért maximum értékeket mutatja. Az adatok értékelésénél a kimutatási határok felett (>LOD) mikotoxint tartalmazó mintákat is figyelembe vettem, ezeket az eredményeket az adott toxin LOQ értékére állítottam be, és az átlagkoncentráció számolást ez alapján végeztem el. Értékelésem módszertanát Ambrus és Szeitzné (2010) publikációjára alapoztam.

**30. táblázat:** A betakarított, feldolgozatlan, tisztítatlan gabonák (összes gabonaminta, *n*=116) DON, ZEN, T-2 mikotoxin koncentrációjának értékelése, a kimutatási határ feletti minták figyelembe vételével

| Mikotoxin | Gabona | Átlag-koncentráció[a] (µg/kg) | SD (µg/kg) | Min. (µg/kg) | Max. (µg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|
| **DON** | Kukorica | **1644** | 784 | 222 | 2963 |
| | Búza | **407** | 316 | 222 | 1880 |
| | Árpa | **278** | 78 | 222 | 429 |
| | Zab | **236** | 37 | 222 | 359 |
| ZEN | Kukorica | 140 | 174 | 50 | 565 |
| | Búza | 56 | 14 | 50 | 98 |
| | Árpa | 50 | 0 | 50 | 50 |
| | Zab | 50 | 0 | 50 | 50 |
| T-2 | Kukorica | 60 | 20 | 50 | 146 |
| | Búza | 54 | 9 | 50 | 87 |
| | Árpa | 51 | 5 | 50 | 79 |
| | Zab | 51 | 3 | 50 | 69 |

[a] *>LOD minták figyelembe vételével*

*Max.: mért maximum koncentrációs érték; Min.: minimum koncentrációs érték*

A DON eredmények egy nagyságrenddel nagyobbak a ZEN és a T-2 eredményeknél, kivétel a kukorica DON és T-2 értékek esetében, ahol a különbség két nagyságrendbeli.

A 31. táblázat mutatja be a *Fusarium* mikotoxinok megengedett határértékeit és irányértékeit feldolgozatlan gabonafélékben. Az élelmezési célú felhasználás esetében határértéket, takarmányozási céllal irányértékeket határoz meg a szabályozás. A takarmányozási irányértékek többszörösei az élelmezési határértékeknek, amelyek így lehetővé teszik a magasabb mikotoxin szennyezettségű gabonák bekerülését az élelmiszerláncba az állati takarmányozás oldaláról, ezzel a mikotoxinok állategészségügyi kockázata kiemelkedő jelentőségű lehet.

**31. táblázat:** A maximálisan megengedett és az ajánlott *Fusarium* mikotoxin értékek feldolgozatlan gabonafélékben, amelyeket élelmezési és takarmányozási céllal használnak fel

| Mikotoxin | Gabonák (feldolgozatlan) | Maximálisan megengedett érték, határérték[a] (ML) (µg/kg) | Irányérték[b] (12,5% nedvességtartalom estében) (µg/kg) |
|---|---|---|---|
| DON | Kukorica | 1750 | 8000 |
| | Búza | 1250 | 8000 |
| | Árpa | 1250 | 8000 |
| | Zab | 1750 | 8000 |
| ZEN | Búza | 100 | 2000 |
| | Árpa | 100 | 2000 |
| | Zab | 100 | 2000 |
| | Kukorica | 350 | 2000 |
| T-2 és HT-2[c] (indikatív értékek) | Búza | 100 | 500 |
| | Kukorica | 100 | 500 |
| | Árpa | 200 | 500 |
| | Zab | 200 | 500 |

[a] *1126/2007/EK Bizottsági rendelet.*

[b] *2006/576/EK Bizottsági ajánlás.*

[c] *2013/165/EU Bizottsági ajánlás.*

Mérési adataimat elemezve az átlagkoncentrációs értékek a kimutatási határ felett számításba vett minták (>LOD = LOQ értéken számolva/mikotoxinonként) esetében (±SD) DON, ZEN, T-2 toxinoknál kukorica mintákban: 1644 ± 784 µg/kg, 140 ± 174 µg/kg, 60 ± 20 µg/kg voltak. A bizottsági szabályozás szerint a kukoricára vonatkozóan DON toxin esetében 1750 µg/kg, a ZEN-re 350 µg/kg, és a T-2 toxinra 100 µg/kg a megállapított határérték. Mérési eredményeim között $n$=4 minta volt DON mikotoxinnal határérték felett szennyezett (>ML).

A ZEN toxin szennyezettség szintén ugyanazon $n$=4 kukorica minta esetében volt magasabb, határérték feletti (határérték: 350 µg/kg). A T-2 toxin szennyezettség $n$=2 mintánál volt megfigyelhető, amelyek a DON és a ZEN azonos szennyezettségű (>ML) $n$=4 mintái közül kerültek ki (mért legmagasabb átlagkoncentrációs érték: 146 µg/kg volt).

Búza mintáknál a DON, ZEN, T-2 mikotoxinok átlagkoncentrációs eredményei (a fent említett módon értékelve) ±SD a következők: 407 ± 316 µg/kg, 56 ± 14 µg/kg, 54 ± 9 µg/kg. Itt *n*=1 minta volt DON határérték (1250 µg/kg) felett szennyezett, a mért eredmény 1880 µg/kg volt.

Árpa minták mérési eredményei DON ZEN, T-2 mikotoxinokra vonatkozóan: 278 ± 78 µg/kg, 50 µg/kg, 51 ± 5 µg/kg.

A zab minták DON ZEN és T-2 mikotoxinonként: 236 ± 37 µg/kg, 50 µg/kg, 51 ± 3 µg/kg adódtak. A T-2 mikotoxin szennyezettség a zab minták esetében volt a legkisebb. Magas T-2 szennyezettség volt megfigyelhető a kukorica mintákban.

### Marker mikotoxin kijelölés

Az ugyanazon típusú gabonák, valamint a különböző gabonafélék mikotoxin eredményeit varianciaanalízis (RStudio: ANOVA) segítségével hasonlítottam össze, melyet a 32. táblázat mutat be.

**32. táblázat**: Varianciaanalízis (ANOVA) *p*- értéke azonos minták mikotoxinjai között valamint különböző gabonafajták mikotoxinjai között

| | *p* érték (value) | | |
|---|---|---|---|
| | DON | ZEN | T-2 |
| Minták | 0,033* | 0,040* | 0,426 |
| Gabonák | 0,043* | 0,046* | 0,312 |

**Szignifikáns különbség=Significantly different (p <0.05).*

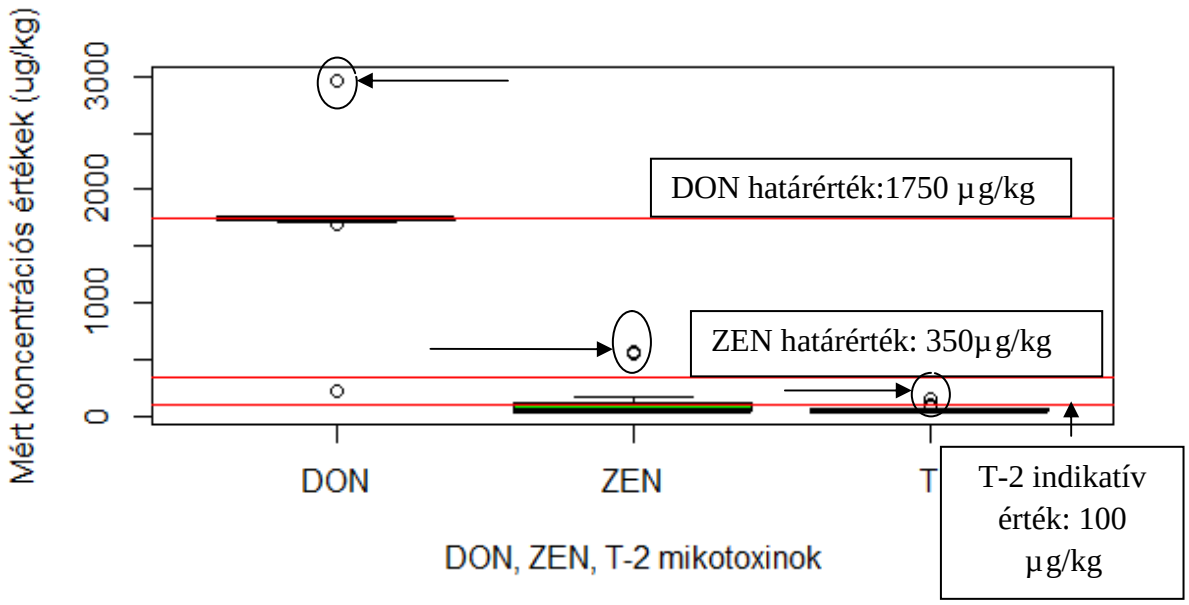
Az ANOVA statisztikailag szignifikáns különbséget mutatott (*p<0,05*) DON és ZEN koncentrációkban ugyanazon típusú gabonamintákban és különböző gabonafélék (kukorica, búza, árpa, zab) mikotoxin koncentrációi (DON, ZEN) között is (kimutatási határ feletti mintákat is figyelembe véve).

A variancia vagy szórásnégyzet a sokaság elemeinek számtani átlagától vett eltérések négyzetösszegéből számított átlag. Az átlag egy adatsokaságra jellemző szám. Úgy számíthatjuk ki, hogy az adatok összegét elosztjuk a darabszámukkal. Az átlag nagyobb a számsokaság legkisebb értékénél, és kisebb a legnagyobbnál. Előfordul, hogy az átlag nem jellemzi jól a számsokaságot, ekkor egyéb a számhalmazra jellemző tulajdonságokat is megvizsgálhatunk, például az átlagtól való eltérést. Az átlagkoncentrációs értékek számítása

során azonban nem hagyhatjuk figyelmen kívül a mérési bizonytalanságokat valamint a kimutatási határ felett LOQ értékekre állított eredmények számolási bizonytalanságát sem, az utóbbi esetében valószínűsíthető, hogy fölé becsüljük az átlagkoncentrációkat, azonban így figyelembe vesszük az összes eredményünket.

A szórásnégyzet fontos szerepet tölt be a sokaság változékonyságának az elemzésében (az ilyen vizsgálatokat nevezzük varianciaanalízisnek).

A kukorica minták mérési eredményeit mutatja be *box-plot* ábrázolásban a 8. ábra. A *box-plot* ábra is a változók elhelyezkedését szemlélteti, amikor is a változók 50%-át egy „dobozba zárjuk".



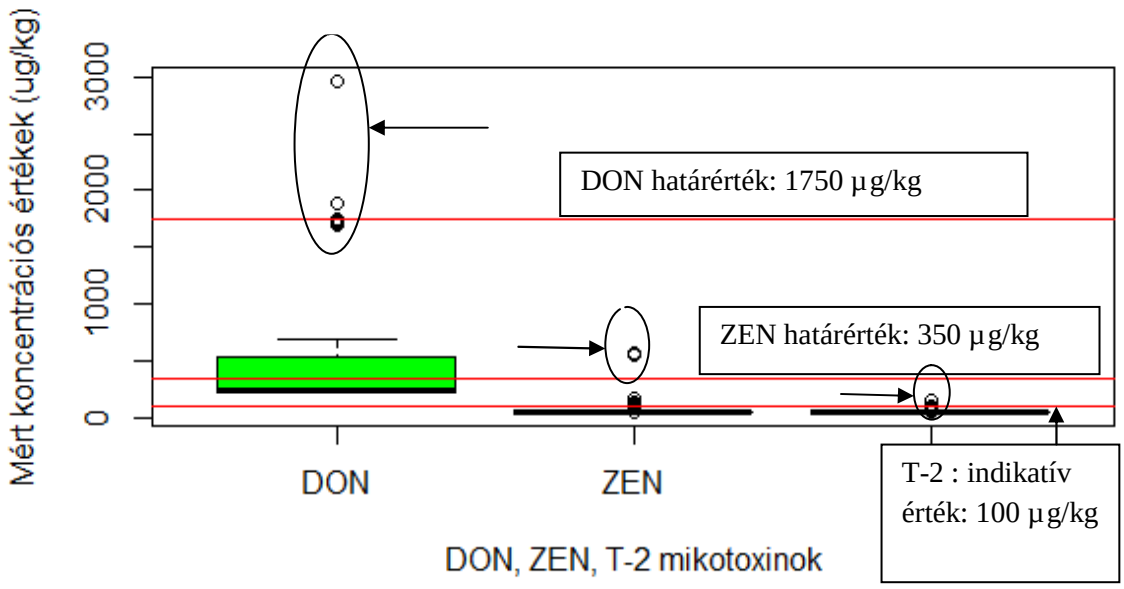

**8. ábra:** Kukorica minták *box-plot* ábrázolása DON, ZEN, T-2 mikotoxinok esetében

A doboz alja az alsó kvartilist $Q_1$, a doboz teteje a felső kvartilist jelöli $Q_3$. A doboz mérete egyenlő az interkvartilis ($i_Q$) terjedelemmel, azaz a változóértékek „középső" 50%-át foglalja magába. A fel és a le vonalak hossza az interkvartilis terjedelem 1,5-szerese *(1,5 x $i_Q$)*. Az ezen kivűl eső értékek az outlierek, jelölésük *„o"*. A *3 $i_Q$-nál* távolabb eső értékek az úgynevezett extrémek. A statisztikai ábrázolások során szintén az összes mintát figyelembe vettem, >LOD = LOQ értéken ábrázolva/mikotoxinonként.

A 8. ábra az egyes mikotoxinok medián (vastag vonallal kiemelve), minimum és maximum értékeit szemlélteti kukorica minták esetében *„Box & Whisker plot"*-ban. A kiugróan magas medián és átlag értékek, valamint a DON, ZEN, T-2 mitoxinok nagyságrendbeli eltérései

miatt eltorzult az összesített ábra. Az ábrán nyíllal és körrel jelölt mérési eredmények a határérték feletti (outlierek) kukorica mintákat jelzik. Az „eltorzult” ábra szemléltetésének célja a határárték feletti mérési eredmények bemutatása, valamint a DON szennyezettség nagyságrendbeli eltérésének érzékeltetése volt. Továbbá annak a bemutatása, hogy ugyanazon minták ($n$=4) DON eredményei határérték felettiek, mint amelyek a ZEN határérték felett szennyezett kukorica mintái ($n$=4), és ezekből $n$=2 T-2 toxin esetében is magasabb, indikatív érték felett volt.

Az összes gabona mintára (kukorica, búza, árpa, zab: $n$=116) vonatkozó *box-plot* ábrázolást a 9. ábra mutatja.




**9. ábra:** Az összes gabona minta *box-plot* ábrázolása DON, ZEN, T-2 mikotoxinok esetében

A 8. ábrán is csakúgy, mint a 9. ábrán piros trendvonallal a kukoricára vonatkozó határértékek vannak jelölve, mert a kukorica esetében találtam DON, ZEN, T-2 toxinokra vonatkozóan határérték feletti mintákat (és $n$=1 búza minta volt ML felett DON toxinra).

A DON toxin szerkezeti stabilitása, valamint nagyságrendbeli eltérése miatt jelző értékű lehet a ZEN toxin szennyezettség jelenlétére is feldolgozatlan gabonák esetében. Továbbá határérték felett DON toxinnal szennyezett gabonák T-2 toxin vizsgálatát is fontos elvégezni, mert részben jelző értékű a T-2 toxin jelenlétére, indikatív érték feletti ($n$=2) szennyezettségére.

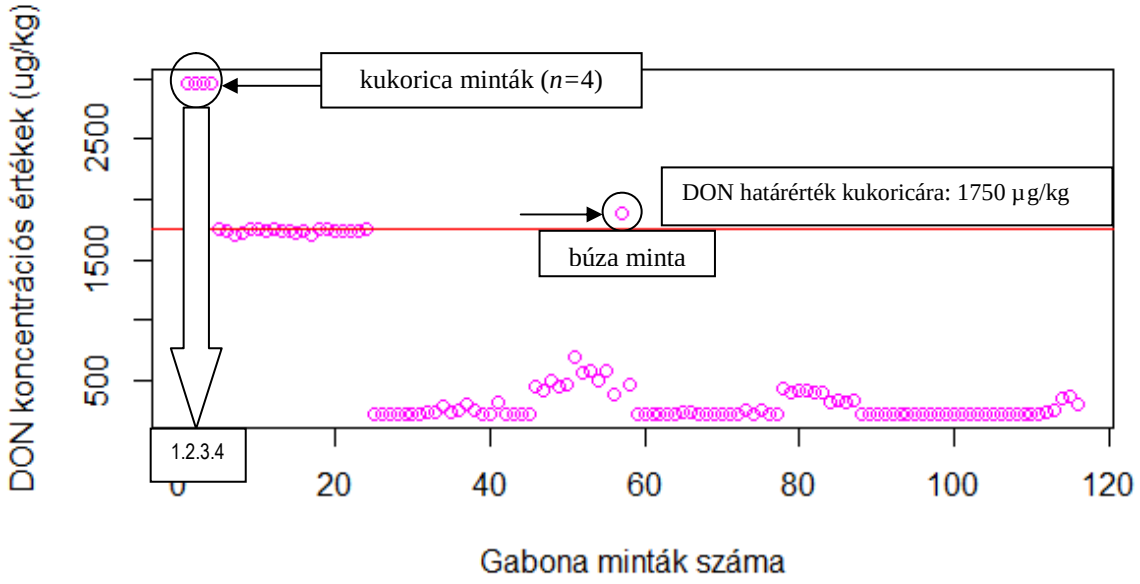
Hasonló megállapításokat tettek horvát kutatók (Pleadin et al., 2013) feldolgozatlan gabona minták mikotoxin szennyezettségére vonatkozóan. Tanulmányukban szintén kukorica, búza, árpa, zab (*n*=181) mintákat vizsgálatak R-Biopharm-os ELISA kitekkel. Az általuk vizsgált mikotoxinok: DON, ZEN, $FB_{1,}$ T-2 voltak.

Megállapításaik szerint a DON toxin átlagkoncentrációs szennyezettség (>LOD) ± SD kukorica esetében: 1565 ± 2915 µg/kg, a ZEN toxin: 187 ± 565 µg/kg, T-2 toxin: 24 ± 27 µg/kg-nak adódott. Kimutatási határok DON toxinra: 20,5 µg/kg, ZEN: 2,1 µg/kg, T-2: 4,1 µg/kg volt. Határérték felett DON és ZEN mikotoxinokkal szennyezett *n*=4 kukorica és *n*=1 búza mintákat találtak. A kukorica minták esetében ugyanazon 4 minta bizonyult szennyezettnek (>ML) DON és ZEN toxinokkal.

A DON toxin szennyezettség nagyobb arányú előfordulását publikálta Vogelgsang et al. (2017) Svájcban. A kutatók vizsgálataikhoz (2007-2014 között) szintén feldolgozatlan gabonaféléket használtak. Az évek során a DON mikotoxin szennyezett minták aránya 52-98% között (összes minta DON koncentrációs átlaga: 607 µg/kg), a ZEN toxin 9-43% között alakult (összes minta ZEN koncentrációs átlaga: 37 µg/kg). Ebben az esetben is nagyságrendbeli különbségeket figyelhetünk meg a DON és a ZEN átlagértékek között.

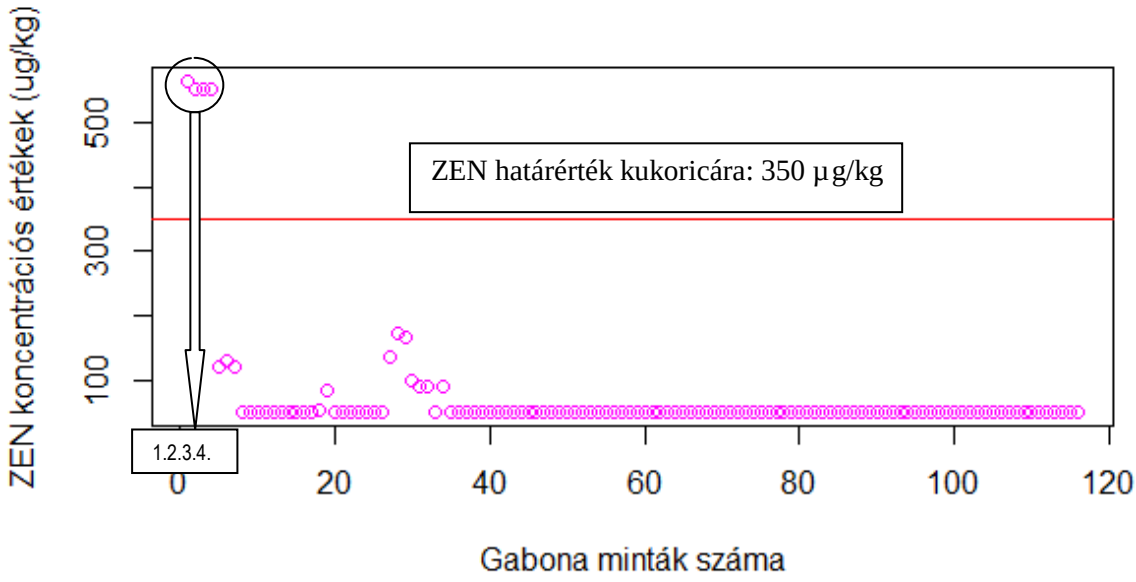
Vizsgálataim során megállapítható, hogy a 9. ábra is „torzult” a mikotoxinok nagyságrendbeli eltérései miatt, azonban megfelelően tudja ábrázolni a határérték feletti mérési eredményeket mind a három toxin tekintetében, így jól szemlélteti a DON mikotoxin marker jellegét. A DON toxin marker jellegét ZEN toxinra vonatkozóan Pleadin és munkatársai (2013) is méréseikkel megerősítették, hasonló eredményekre jutottak, mint a vizsgálataimban leírtak. Továbbá a fent említett svájci kutatók is a DON toxin szennyezettség nagyobb arányát és nagyságrendbeli különbségét mutatták ki gabona mintákban.

Az összes minta *n*=116 egyenkénti ábrázolását teszi lehetővé az úgynevezett *„plot”*-os megjelenítés. A magas mintaszám miatt azonban itt is átfedések, összecsúszások lehetnek az ábrán (amit még okozhatnak a hasonló mérési eredmények is), de a szennyezettségek nagyságrendbeli szemléltetésére, valamint a marker toxin ábrázolására megfelelő megjelenítési mód. Ezt mutatják be a 10-11-12. ábrák, az ábrázolás sorrendje a DON, ZEN, T-2 mikotoxin mérési eredmények mintánként, LOD-LOQ közötti minták LOQ értékre történt beállításaival (>LOD =LOQ).

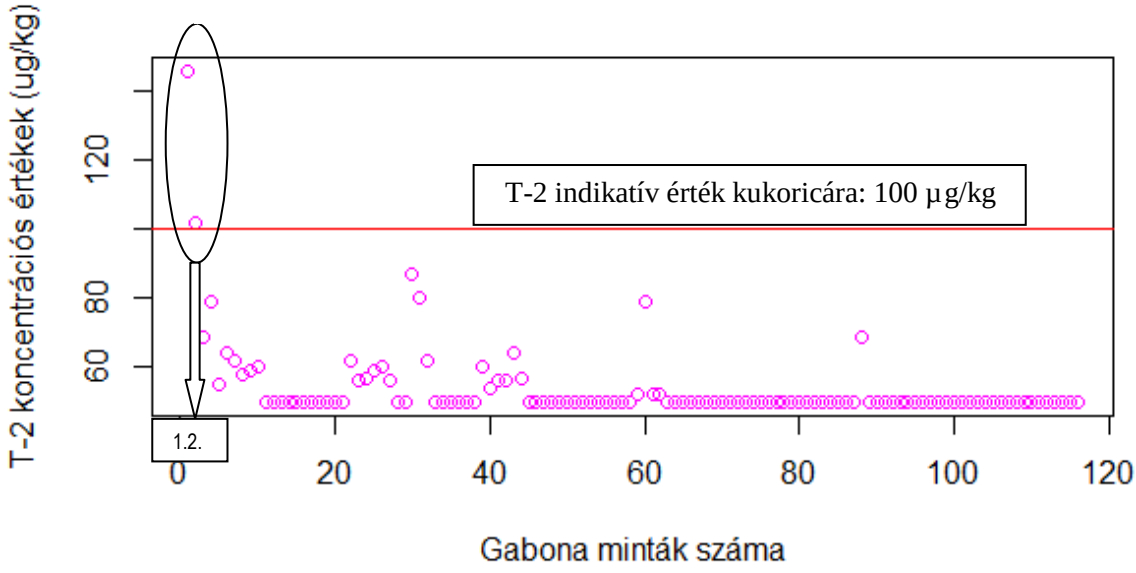



**10. ábra:** Összes gabonaminta DON toxin mérési eredményei (x tengely/nyíl a mintaszámot jelöli)

A DON mérési eredmények ábrázolása során a határértéket 1750 µg/kg-nál piros vonal jelzi. Az *n*=4 kukorica minta (körrel és nyíllal jelölve), mint „outlier” jelenik meg az ábrán, valamint láthatjuk az *n*=1 ML felett szennyezett búzamintát is (körrel és nyíllal jelölve). Az x tengely a minták számát mutatja, így a következő ábrákon, amelyek a ZEN és a T-2 mérési eredményeket szemléltetik, láthatjuk, hogy ugyanazon a mintákon vannak a magasabb (>ML) értékek.




**11. ábra:** Összes gabonaminta ZEN toxin mérési eredményei




**12. ábra:** Összes gabonaminta T-2 toxin mérési eredményei

Vizsgálataim során megállapítottam, hogy a búza és a kukorica *Fusarium* mikotoxinokra vonatkozóan a legszennyezettebb gabonák közé tartozik a négy gabonafajta összehasonlításában, mind DON, mind ZEN toxinokra vonatkoztatva. Ennek, a két gabonafajtának a deoxinivalenol és a zearalenon mérési eredményeinek koncentrációs átlagértékei (>LOD =LOQ értéken számolva) magasabbnak bizonyultak, mint az árpáé és a zabé. Búza esetében $n$=1 mintát találtam élelmezési határérték felett DON toxinra vonatkozóan. Kukoricánál $n$=4 minta volt DON valamint ZEN, továbbá $n$=2 T-2 mikotoxin szempontjából élelmezési határérték/indikatív érték felett.

Vizsgálataimból megállapítható, hogy szükséges ezen mikotoxinok (DON, ZEN, T-2) nagyobb arányú vizsgálata gabonák esetében. Valamint az emberi élelmezési határértékek, és állati takarmányozási irányértékek közelítése is fontos feladat lenne élelmiszer-biztonsági okoból.

A DON mikotoxin mint marker mikotoxin megjelölése a laboratóriumi költségek (ELISA) tervezése szempontjából is kiemelkedő jelentőségű lehet. Eredményeim alapján megállapítható hogy mely esetekben szükséges a DON vizsgálat mellett a ZEN valamint a T-2 toxinok vizsgálatait is elvégezni, ezek a DON toxinnal nagyobb mértékben illetve határérték felett szennyezett minták. Határérték felett DON toxinnal szennyezett minták további vizsgálata ZEN toxinra vonatkozóan állat és humán egészségügyi tünetek, problémák okainak azonosítására is szolgálhat. Ilyen például állati takarmányozás esetében a takarmány visszautasítás, gastrointestinális tünetek és a szaporodásbiológiai problémák együttes megjelenésének kutatása.

A DON toxin határérték feletti szennyezettség előfordulása esetén, marker a ZEN toxinra, a ZEN szennyezettségének előfordulására valamint határérték feletti megjelenésének lehetőségére. A T-2 toxin vizsgálata szükséges a DON és a ZEN együttes ML feletti előfordulása esetén.

A 2013-as időjárási adatok értékelése alapján (3.1. fejezetben) saját eredményeim arra mutatnak, hogy a meleg, csapadékos klíma előfordulása az egyes gabonák fejlődési szakaszában hatással van a DON, ZEN, T-2 mikotoxin szennyezettség alakulására.

Ezen toxinok élelmiszer és takarmány-biztonsági kockázata véleményem szerint magasabb ebben az esetben. Megállapításaimnál figyelembe vettem Szeitzné (Ambrus et al., 2009) szerkesztésében megjelent állításokat a termések *Fusarium* fertőzésének feltételeivel kapcsolatban.

### 4.2. Növényi alapanyagok *Fusarium* mikotoxin szennyezettsége

Vizsgálataimhoz az első vizsgálati csoportban $n$=20: szója, lucerna pellet; a második vizsgálati csoportban $n$=20: búza, árpa, és kukorica mintákat használtam ($\Sigma n$=40). A két csoportot abból a célból alakítottam ki, hogy valószínűsíthető a takarmányozáshoz használt gabonák és más növényi alapanyagok különböző mértékű toxin szennyezettsége, így az összevont értékelések torzíthatták volna az eredményeimet.

Első vizsgálati csoportban $\Sigma n$=20 takarmányozáshoz használt alapanyagot vizsgáltam meg. Ezek a növények szója ($n$=10), és lucerna pellet ($n$=10) minták voltak. Mindegyik mikotoxin vizsgálat előtt kalibrációt (5 standard pontos) végeztem a tesztekhez mellékelt standard oldatokkal. A kalibrációs görbék korrelációs együtthatói ($R^2$) DON toxin kalibráció esetében 0,9962; ZEN kalibrációnál 0,9998 és T-2 kalibráció esetében 0,9943 volt. A kalibrálás lineáris, ha a korrelációs együttható ($R^2$) magasabb, mint 0,990.

Szója esetében DON és T-2 toxinokra nézve az összes mintában mennyiségi meghatározási határ alatt (<LOQ), de kimutatási határ felett (>LOD) voltak az értékek, ennek oka az is lehet, hogy takarmányozáshoz elsősorban az alacsonyabb minőségű növényi alapanyagokat használják fel. A ZEN toxin a minták 60%-ban volt mennyiségileg (>LOQ) meghatározható. A lucerna pellet minták esetében mind a három toxinnál 100%-ban LOQ felett voltak a koncentrációk. Azonban összeségében elmondható, hogy mindegyik mintában, minden toxin LOD feletti koncentrációban volt.

A statisztikai elemzésekhez az R programnyelv RStudio (RStudio Inc.) grafikus kezelőfelületét használtam fel. A szoftver segítségével kiértékelt adatokat a 33. táblázat mutatja. Ebben a táblázatban az összes vizsgált minta mikotoxin koncentrációinak statisztikai értékelését látjuk, amely azt mutatja (értékelés módszertana ugyanaz, mint a 4.1. fejezetben), hogy a DON mikotoxinok medián és átlagértéke egy nagyságrenddel nagyobb a zearalenon és T-2 mikotoxinokétól, ez a három toxin tekintetében a marker mikotoxin meghatározást segíti. Az összevont elemzést a mikotoxinonként hasonló koncentrációs eredmények tették lehetővé, célja a 4.1. fejezetben kijelölt marker toxin további kutatása más mintamátrixokban.

Azonban ebben az esetben is az értékek számolásánál figyelembe kellene vennünk a mérési bizonytalanságot (ELISA módszer: ±R%<LOQ<±R%) továbbá az LOD-LOQ közötti mintáknál az értékek fölé becslésének valószínűségét. Ezzel a problémával kutatásaim kísérleteiben nem foglalkoztam, mert véleményem szerint a markertoxin kutatást ez kismértékben befolyásolhatja, az ilyen jellegű bizonytalanságok figyelembe vétele a

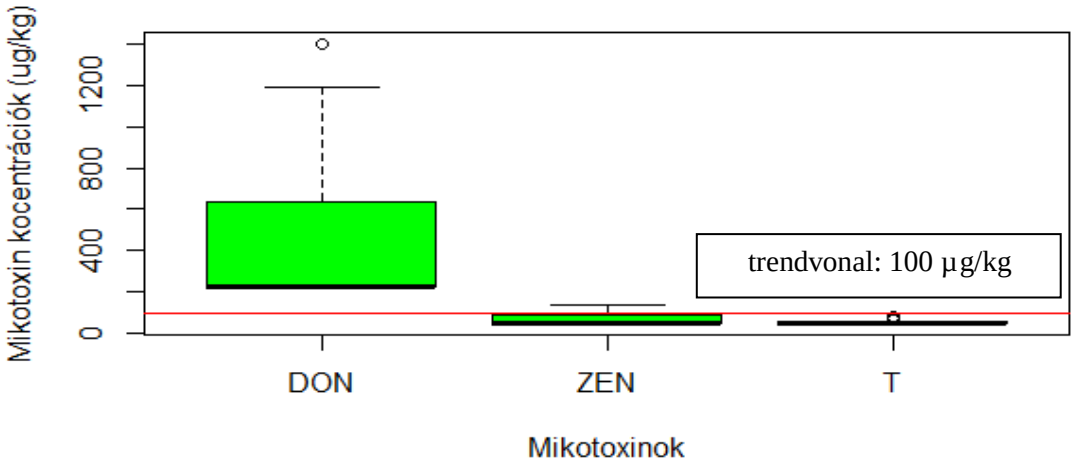
kockázatbecsléseknél (humán expozíció) nélkülözhetetlenek. Az én kutatásom esetében a nagyságrenbeli eltérések bizonyítása volt a cél a legkülönfélébb mintamátrixokban.

**33. táblázat:** Kimutatási határ feletti (>LOD =LOQ értékre állítva) mikotoxin koncentrációk értékelése az összes mintára vonatkoztatva (szója, lucerna pellet), RStudio matematikai-statisztikai programmal

| DON | ZEN | T-2 |
|---|---|---|
| µg/kg | µg/kg | µg/kg |
| Min. : 222.0 | Min. : 50.0 | Min. : 50.0 |
| 1st Qu. : 222.0 | 1st Qu. : 50.0 | 1st Qu. :50.0 |
| **Median: 222.0** | **Median: 50.0** | **Median:50.0** |
| **Átlag : 457.5** | **Átlag : 68.6** | **Átlag :55.4** |
| 3rd Qu. :429.0 | 3rd Qu. :85.2 | 3rd Qu. :52.5 |
| Max. :1400.0 | Max. :134.0 | Max. :83.0 |

*1st Qu.: Első kvartilis (First quartile)*
*3rd Qu.: Harmadik kvartilis (Third quartile)*
*Min.: minimum érték*
*Max.: mért maximum érték*

Az egyes mikotoxinok medián, minimum és maximum értékei vannak szemléltetve a 13. ábrán az úgynevezett *„Box & Whisker plot”*-ban.




**13. ábra:** Mikotoxin koncentrációk (>LOD =LOQ értékre állítva) (szója, lucerna pellet) *boxplot* ábrázolása a medián érték kiemelésével, RStudio statisztikai programmal

A három toxin együttes ábrázolása során az ábra ugyan eltorzult, de szemléltetésének célja a nagyságrendbeli különbségek bemutatása (célja: markertoxin kutatás), piros trendvonallal 100 µg/kg-on behúzva. A szennyezettség mértékére jelzőértékű lehet a maximálisan mért koncentrációk nagyságrendbeli eltérései is mikotoxinonként.

Mivel igen nagy különbségek vannak a medián értékek között a DON és a másik két mikotoxin esetében, valamint a mintaszámunk sem túl nagy, az eloszlások illetve a normalitás vizsgálata, a nagy bizonytalanság miatt nem tehető meg. Ha a normális eloszlás nem bizonyítható, akkor a medián értékek összehasonlítására használhatjuk a Wilcoxon tesztet. A vizsgált mintákra nézve a ZEN és a T-2 mikotoxinok medián értékei nem különböznek (szignifikánsan) egymástól ($p$>0,05), de a DON és a ZEN ($p$ <0,05) valamint, a DON és a T-2 toxinok ($p$ <0,05) értékei igen. A mérési értéktartományokhoz tartozó minták számát a 34. táblázat mutatja.

**34. táblázat:** A DON, ZEN, T-2 mérési értéktartományaiban elhelyezkedő minták száma (*n*)

| Mikotoxinok | Minták | LOD - LOQ között (*n*) | >LOQ (*n*) |
|---|---|---|---|
| DON | Szója | 10 | 0 |
| | Lucerna pellet | 0 | 10 |
| ZEN | Szója | 4 | 6 |
| | Lucerna pellet | 0 | 10 |
| T-2 | Szója | 10 | 0 |
| | Lucerna pellet | 0 | 10 |

*n= mintaszám*

Eredményeim értékelése során megállapítottam, hogy takarmányozási irányérték feletti minta nem volt a csoportban.

A második vizsgálati csoportban búza (*n*=7), árpa (*n*=7), és kukorica (*n*=6) mintákat vizsgáltam (Σ*n*=20). Minden mérés előtt kalibrációt (5 standard pontos) végeztem a vizsgált *Fusarium* mikotoxinokra. A kalibrációs görbéim korrelációs együtthatójának négyzete ($R^2$) DON toxin kalibráció esetében: 0,9974, ZEN kalibrációnál: 0,9977, és T-2 kalibráció esetében: 0,9983.

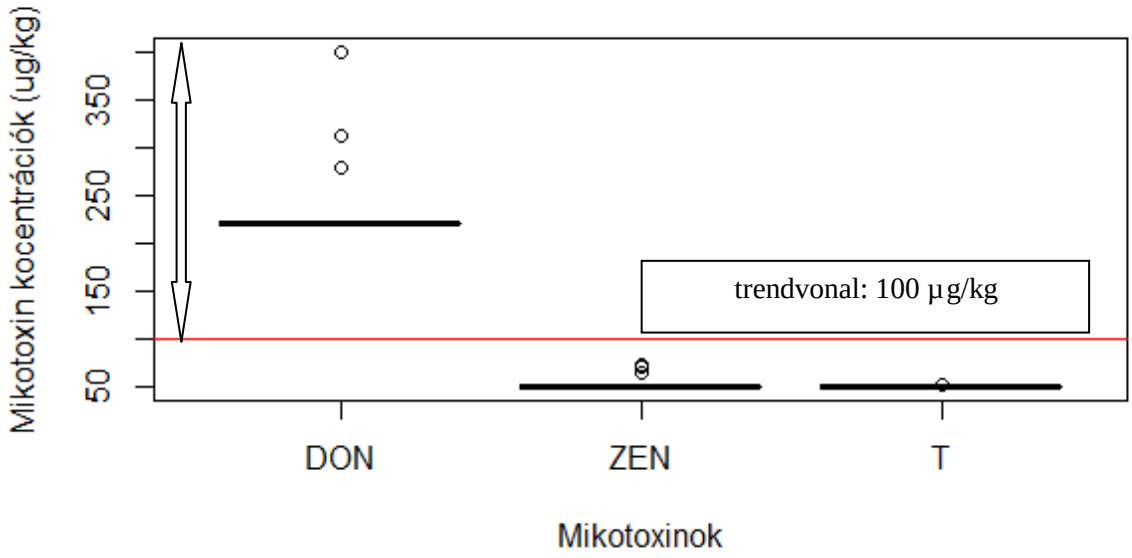
Mindegyik mintában (hasonlóan az 1. csoporthoz) mind a három mikotoxin kimutatási határ felett (>LOD) volt. Az RStudio szoftver segítségével kiértékelt adatokat a 35. táblázatban adtam meg, ahol az összes vizsgált minta mikotoxin koncentrációinak statisztikai értékelését látjuk. Az értékelés módszertana megegyezik az előzőekben leírtakhoz (>LOD =LOQ értékre állítva/mikotoxinonként).

**35. táblázat:** LOD feletti mikotoxin koncentrációk értékelése (= LOQ értéken számolva) az összes mintára vonatkoztatva (búza, árpa, kukorica), RStudio matematikai-statisztikai programmal

| DON | ZEN | T-2 |
|---|---|---|
| µg/kg | µg/kg | µg/kg |
| Min. : 222.0 | Min. : 50.0 | Min. :50.0 |
| 1st Qu.: 222.0 | 1st Qu.: 50.0 | 1st Qu.:50.0 |
| **Median : 222.0** | **Median : 50.0** | **Median :50.0** |
| **Átlag : 238.4** | **Átlag : 53.5** | **Átlag :50.1** |
| 3rd Qu.: 222.0 | 3rd Qu.:50.0 | 3rd Qu.:50.0 |
| Max. : 401.0 | Max. :72.0 | Max. :52.0 |

*1st Qu.: Első kvartilis (First quartile)*
*3rd Qu.: Harmadik kvartilis (Third quartile)*
*Min.: minimum érték*
*Max.: mért maximum érték*

A kiértékelésből megállapíthatjuk, hogy a deoxinivalenol mikotoxinok átlag és medián értékei itt is nagyobbak (egy nagyságrenddel) a zearalenon, és T-2 mikotoxinokénál, amely a DON toxin marker jellegét erősíti a másik két toxinra vonatkozóan, összesített mintákat vizsgálva. A 14. ábra a vizsgált mikotoxinok medián, maximum és minimum értékeit mutatják. A *boxplot* ábrázolás ebben az esetben is a mérési eredmények koncentrációs értéktartományait szemléltetik megfelelően (y tengelyen), amelynek célja a marker mikotoxin kutatása.




**14. ábra:** Mikotoxin koncentrációk (>LOD =LOQ értékre állítva) (búza, árpa, kukorica) *„boxplot”* ábrázolása, a medián érték kiemelésével, RStudio statisztikai programmal

A nagy eltérések miatt ebben az esetben sem volt értelme az eloszlás és normalitás vizsgálatnak. A mediánok összehasonlítása során az első csoporttal megegyező következtetésre jutottam, amely a DON egy nagyságrendbeli magasabb medián és átlagértékét mutatja a ZEN és T-2 toxinokhoz képest.

A mérési eredmények takarmányozási irányérték alatt voltak, amelyet a 2006/576/EK Bizottsági ajánlás fogalmaz meg (2.5.1. fejezet).

A 36. táblázat a különböző koncentrációs értéktartományokban elhelyezkedő minták számát mutatja be.

**36. táblázat:** A DON, ZEN, T-2 mérési értéktartományaiban elhelyezkedő minták száma

| Mikotoxinok | Minták | LOD - LOQ között (*n*) | >LOQ (*n*) |
|---|---|---|---|
| DON | Búza | 7 | 0 |
| | Árpa | 6 | 1 |
| | Kukorica | 3 | 3 |
| ZEN | Búza | 0 | 7 |
| | Árpa | 7 | 0 |
| | Kukorica | 5 | 1 |
| T-2 | Búza | 7 | 0 |
| | Árpa | 7 | 0 |
| | Kukorica | 5 | 1 |

*n= mintaszám*

A *Fusarium* mikotoxinok vizsgálata DON, ZEN, T-2 mikotoxinokra vonatkozóan fontos feladat, amelyet már a mezőgazdasági alapanyagok és az állati takarmányok területén kell elkezdenünk, hiszen innen kerülhetnek be a táplálékláncba. A klímaváltozással kapcsolatban megjelenő új veszélyforrások egyike a mikotoxinok előfordulásának megnövekedett gyakorisága az emberi táplálékláncban.

Vizsgálataim során leggyakrabban használt takarmányozási alapanyagok DON, ZEN, T-2 mikotoxin szennyezettségét mértem meg indirekt kompetitív ELISA módszerrel. A módszer gyors, pontos, érzékeny, reprodukálható alapanyagokra nézve. Kísérleteimből kiderült, hogy a vizsgált három toxin minden egyes mintában >LOD koncentrációban volt. Az adatok kiértékeléséből megállapítottam, hogy a DON toxinok átlag és medián értékei mind a két vizsgálati csoportnál (1., 2. vizsgálati csoport) egy nagyságrenddel nagyobbak voltak, mint a ZEN, és a T-2 mikotoxinoké. Ezekből az adatokból az a következtetés vonható le, hogy az alapanyagokat legnagyobb mértékben szennyező toxin a DON (hasonlóan a gabonákhoz), majd ezt követi a ZEN, és végül a T-2 toxin (itt a maximálisan mért értékeket is külön összehasonlítva). Az RStudio matematikai- statisztikai program segítségével az adatokat könnyen, gyorsan ki tudtam értékelni, a megfelelő statisztikai tesztek alkalmazásával pedig információt kaptam a mikotoxinok mennyiségének eltéréseire vonatkozóan.

Megállapítható, hogy a DON, ZEN, T-2 mikotoxinok vizsgálatának jelentősége kiemelkedő feladat az élelmiszer- és takarmánybiztonság területén, hiszen minden mintában a kimutatási határ felett (>LOD) volt a toxin szennyezettség. A DON mikotoxin javasolható marker toxinként részben „stabil" jelenléte miatt, részben mivel a vizsgált mintákban, mint a legjelentősebb szennyező toxin volt jelen magas mért koncentráció értékekkel, a ZEN és a T-2 toxinokhoz képest. Továbbá egy nagyságrenddel nagyobb átlag és medián koncentrációs eredményeket tapasztaltam, hasonlóan, mint a gabonamintáknál (4.1. fejezetben). Mind a két vizsgálati csoport esetében a minták toxinonként történő koncentrációs értékeinek összevonását azért tehettem meg, mert minden egyes mintánál hasonló (nagyságrenben) eredményeket kaptam, munkámat Pleadin et al. (2017) által publikált mikotoxin koncentrációs eredmények értékelésére alapoztam. Az értékelésem célja nem a mátrixonkénti mikotoxin szennyezettség leírása, hanem a markertoxin kutatás volt.

Magyar kutatók (Jolánkai et al., 2008) által publikált eredményükben a DON, F-2 és T-2 mikotoxinok megjelenését vizsgálták takarmány alapanyag mintákban ELISA kitekkel/HPLC UV-VIS fluoreszcenciás detektálás megerősítő módszerrel. A vizsgált minták esetében legmagasabb koncentrációban a DON toxint mutatták ki (1,045-1,6 mg/kg), az eredmények nagyságrenddel nagyobbak voltak az F-2 és T-2 toxinokétól. Szintén nagyobb mikotoxin szennyezettséget tapasztaltak az F-2 toxin (0,181-0,216 mg/kg) esetében. T-2 toxint is minden mintában tudtak detektálni (0-0,0035 mg/kg), ebben az esetben a szennyezettség mértéke a másik két toxinhoz képest igen alacsonynak bizonyult.

### 4.3. Sertés takarmánykeverékek DON, ZEN, T-2 szennyezettsége

A mikotoxinokkal szennyezett takarmányok – növényi alapanyagok és keveréktakarmányok egyaránt – jelentős problémát okoznak szinte minden európai országban. A *Fusarium* nemzetség trichotecén – szerkezetű toxinjai, elsősorban a deoxinivalenol, a T-2; valamint a zearalenon fordulnak elő gyakrabban a takarmányozáshoz használt gabonafélékben és ennek következményeként a sertés keveréktakarmányokban is. A mikotoxinokkal szennyezett takarmányt fogyasztó állatok élelmiszer-biztonsági veszélyt jelenthetnek. Ezen élőlények– mint például a sertés – húsának elfogyasztásával az ember szervezetét rendszeres, kis mennyiségű toxinterhelés érheti (Zou et al., 2011).

Munkám során a mikotoxinok előfordulását, szennyezettségi összefüggéseit (marker mikotoxin) a sertéstápokban, mint keveréktakarmányokban kutattam.

Mérési eredményeimet a 37-38-39. táblázatokban foglaltam össze. A táblázatok a gyártónként mért mikotoxin átlagkoncentrációkat, a medián, szórás, minimum, maximum értékeket mutatják be. A mérési eredmények számolásának módszertana megegyezik az előző két részben ismertetettel (>LOD =LOQ értékként számolva/mikotoxinonként). Ezeknél az eredményeknél is figyelembe kell vennünk az értékek felülbecslésének lehetőségét, de véleményem szerint ez a nagyságrendbeli különbségeken - amelyek a markertoxin kutatáshoz szükségessek – nem változtat.

Vizsgálataim során mindegyik mintában kimutatási határ felett voltak a toxin szennyezettségek, amelyeknek álláspontom szerint az egyik oka az is lehet, hogy a takarmányozáshoz használt alapanyagok kiválasztása során elsősorban azokat használják, amelyek alacsonyabb minőségűek, így emberi élelmezésre nem tudják értékesíteni. Az alacsonyabb minőség alatt az olyan tételeket értem, amelyek például a toxin szennyezettségük miatt már emberi élelmezésre nem alkalmassak, de a sokkal magasabb takarmányozási toxin irányértékek miatt állati fogyasztásra kerülhetnek. A toxin szennyezettség másik forrása lehet, az alapanyagok tisztítottságának mértéke, illetve a gabona magvak héj és külső részeinek felhasználása a takarmánygyártáshoz. A 37. táblázat az X gyártó mintáinak eredményeit foglalja össze.

**37. táblázat:** Mikotoxin mérési eredmények értékelése sertés keveréktakarmányokban X gyártótól (Σ*n*=15: LOD< *n*=12<LOQ<*n*=3)

| Mikotoxin | Keverék-takarmány | Koncentrációs átlagértékek[a] (µg/kg) | Medián (µg/kg) | Szórás (µg/kg) | Mininimum (µg/kg) | Maximum (µg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| DON | Koca | **222** | 222 | 0,4 | 222 | 223 |
| | Kan | **245** | 222 | 50 | 222 | 335 |
| | Malac | **222** | 222 | 0 | 222 | 222 |
| ZEN | Koca | 50 | 50 | 0 | 50 | 50 |
| | Kan | 50 | 50 | 0 | 50 | 50 |
| | Malac | 50 | 50 | 0 | 50 | 50 |
| T-2 | Koca | 51 | 50 | 1,3 | 50 | 53 |
| | Kan | 50 | 50 | 0,8 | 50 | 52 |
| | Malac | 50 | 50 | 0,8 | 50 | 52 |

[a]: >LOD értékek figyelembe vételével/ fent említett módszertan szerint

Az X gyártó koca keveréktakarmányainak mikotoxin átlagértékei (±szórás) DON, ZEN és T-2 toxinok esetében 222 ± 0,4 µg/kg, 50 ± 0 µg/kg és 51 ± 1,3 µg/kg . A kantápok ugyancsak szennyezettek voltak DON, ZEN, T-2 mikotoxinokkal: 245 ± 50 µg/kg, 50 ± 0 µg/kg, 50 ± 0,8 µg/kg koncentrációban. A malactáp minták átlag mikotoxin koncentrációs eredményei (±SD): 222 ± 0 µg/kg, 50 ± 0 µg/kg valamint 50 ± 0,8 µg/kg értéknek adódtak.

A DON és a ZEN valamint a DON és a T-2 mikotoxinok (átlagkoncentrációs értékek) közötti nagyságrendbeli különbségek figyelhetők meg a táblázatban. A DON mikotoxin mérési eredmények egy nagyságrenddel nagyobbak a ZEN és a T-2 mikotoxin átlagkoncentrációs értékeknél.

Az Y takarmánygyártó mintáinak mikotoxin eredményeit a 38. táblázat mutatja be.

**38. táblázat:** Mikotoxin mérési eredmények értékelése sertés keveréktakarmányokban Y gyártótól (Σ*n*=15: LOD<*n*=9<LOQ<*n*=6)

| Mikotoxin | Takarmány-keverék | Koncentrációs átlagértékek[a] (µg/kg) | Medián (µg/kg) | Szórás (µg/kg) | Minimum (µg/kg) | Maximum (µg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| DON | Koca | **222** | 222 | 0,9 | 222 | 224 |
| | Kan | **872*** | 930 | 139 | 681 | 997 |
| | Malac | **222** | 222 | 0 | 222 | 222 |
| ZEN | Koca | 50 | 50 | 0 | 50 | 50 |
| | Kan | **172*** | 169 | 18 | 153 | 192 |
| | Malac | 50 | 50 | 0 | 50 | 50 |
| T-2 | Koca | 51 | 50 | 1,3 | 50 | 53 |
| | Kan | 52 | 50 | 2,5 | 50 | 55 |
| | Malac | 50 | 50 | 0 | 50 | 50 |

[a]: >LOD értékek figyelembe vételével

*: takarmányozási irányérték/depresszív érték felett szennyezett minták találhatók a vizsgálati csoportban

A kocatápok mérési eredményei (±szórás) DON, ZEN, T-2 toxinok esetében 222 ± 0,9 µg/kg, 50 ± 0 µg/kg és 51 ± 1,3 µg/kg voltak. A kantápok mikotoxin mérési átlagértékei 872 ± 139 µg/kg, 172 ± 18 µg/kg, 52 ± 2,5 µg/kg értéket adtak. Malactápok esetében a DON, ZEN, T-2 mikotoxin szennyezettség 222 ± 0 µg/kg, 50 ± 0 µg/kg valamint 50 ± 0 µg/kg volt.

Hasonlóan az előző gyártóhoz itt is megállapítható, hogy a DON mikotoxin átlagkoncentrációs értékek egy nagyságrenddel nagyobbak a ZEN és T-2 értékeknél. Azonban a kantápok esetében depresszív érték felett DON és ZEN toxinnal (*n*=5 - ugyanazon tápoknál magasabb DON és ZEN szennyezettség) szennyezett mintákat találtam. Ezeknél a kantápoknál a ZEN toxin átlagkoncentrációja a DON toxin nagyságrendbeli tartományában található (100 µg/kg<), amely jelző értékű lehet, az irányérték felett DON és ZEN toxinnal

szennyezett mintákra vonatkozóan. Azonban, a T-2 toxin szennyezettség ugyanazon kantápok esetében egy nagyságrenddel kisebb értéket mutatott (<100 µg/kg).
A 39. táblázat az Z takarmánygyártó mintáinak eredményeit mutatja be.

**39. táblázat:** Mikotoxin mérési eredmények értékelése sertés keveréktakarmányokban Z gyártótól (Σ*n*=15: LOD<*n*=12<LOQ<*n*=3)

| Mikotoxin | Takarmány-keverék | Koncentrációs átlagértékek[a] (µg/kg) | Medián (µg/kg) | Szórás (µg/kg) | Minimum (µg kg) | Maximum (µg/kg) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| DON | Koca | **223** | 222 | 1,3 | 222 | 225 |
| | Kan | **222** | 222 | 0 | 222 | 222 |
| | Malac | **222** | 222 | 0 | 222 | 222 |
| ZEN | Koca | 50 | 50 | 0 | 50 | 50 |
| | Kan | 50 | 50 | 0 | 50 | 50 |
| | Malac | 50 | 50 | 0 | 50 | 50 |
| T-2 | Koca | 50 | 50 | 0 | 50 | 50 |
| | Kan | 51 | 50 | 1,8 | 50 | 54 |
| | Malac | 51 | 50 | 1,8 | 50 | 54 |

[a]: >LOD értékek figyelembe vételével

A kocatápok szennyezettsége DON, ZEN, T-2 (± szórás) toxinok esetében 223 ± 1,3 µg/kg, 50 ± 0 µg/kg valamint 50 ± 0 µg/kg voltak. A kantápok mérési eredményei 222 ± 0 µg/kg, 50 ± 0 µg/kg és 51 ± 1,8 µg/kg értékeket mutattak. Malactápok esetében 222 ± 0 µg/kg, 50 ± 0 µg/kg és 51 ± 1,8 µg/kg.

A Z gyártó mérési eredményeit elemezve hasonlóan az X és Y gyártók mikotoxin eredményeihez, itt is megállapítható volt, hogy a DON toxin átlagkoncentrációs értékei

(mindegyik takarmánykeverék fajtánál) egy nagyságrenddel nagyobbak voltak a ZEN és a T-2 toxinokénál.

A takarmányban előforduló fuzariotoxinok számos állatfaj esetében mérgező hatásúak lehetnek. Takarmányok esetében a fuzariumtoxinokra vonatkozóan irányértékeket és nem határértékeket fogalmaztak meg. Ezek az irányértékek magasabbak, mint az élelmiszereknél meghatározott határértékek, és elsősorban iránymutatásul szolgálnak az állattenyésztők számára.

*„Ezek az értékek több szakértő szerint is meglepően magasak."* (Szeitzné, 2010)

A Magyar Tudományos Akadémia Állatorvosi Bizottsága azonban a mikotoxin szintekre alacsonyabb értékeket adott meg kritikus koncentrációként. Az elfogadott értékek a Magyar Takarmánykódexbe is bekerültek. A Kódex a koncentrációs szinteket depresszív és toxikus értékekre osztja. A depresszív érték felett mikotoxinnal szennyezett takarmányok enyhébb mikotoxikózisos tüneteket, mint pl. takarmány visszautasítást, súlyvesztést okozhatnak, a toxikus értékek felett súlyos, akár elhullással járó veszteségek is előfordulhatnak.

A Takarmánykódexben megadott értékek kizárólag takarmánykeverékekre vonatkoznak és figyelembe veszik a különböző állatfajokat és korcsoportjaikat egyaránt (**M2.7.**).

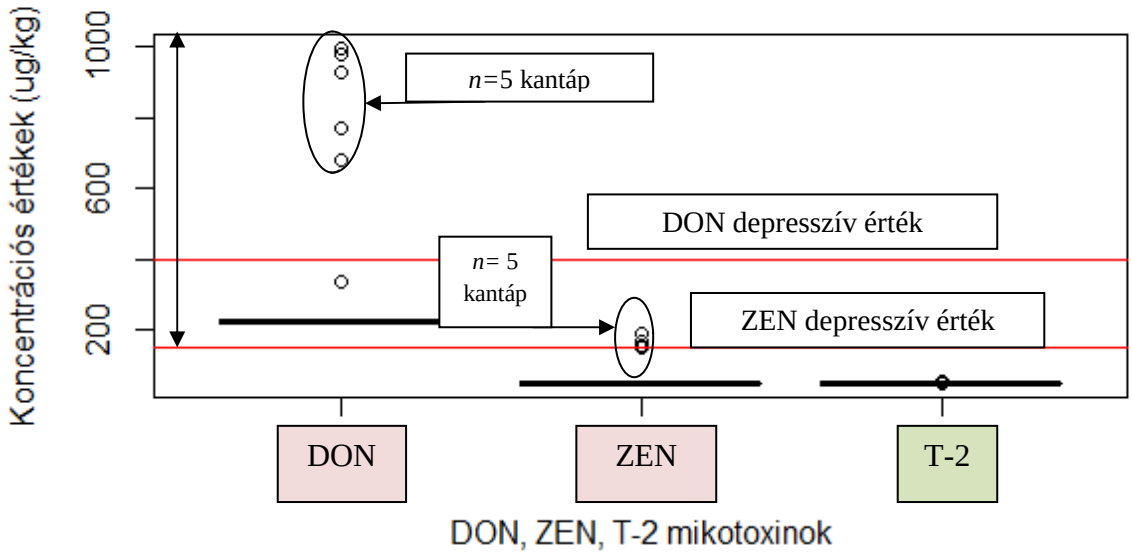
A sertéstakarmány minták vizsgálata során (a fentieket figyelembe véve) megállapítottam, hogy a kocatápoknál mindegyik gyártó (X, Y, Z) esetében a takarmányok irányérték alatt voltak szennyezettek DON, ZEN, T-2 toxinokkal, azonban mindegyik mintában kimutatási határ felett (>LOD) volt a szennyezettség. Ezekről a tápokról megállapítható, hogy alkalmasak kocák takarmányozására, a vonatkozó jogszabálynak (Magyar Takarmány Kódex) megfelelnek.

A kantápok esetében az Y gyártónál mindegyik sertéstáp depresszív érték feletti koncentrációban tartalmazott deoxinivalenol (depresszív érték: 400 µg/kg), és zearalenon (depresszív érték: 150 µg/kg) mikotoxinokat, de a szennyezettségi szintek nem érték el a toxikus értékeket. A T-2 toxin eredmények nem haladták meg a depresszív értéket. A másik két (X, Z) előállító kantápjai a megengedett érték (depresszív) alatti szennyeződéseket mutattak.

A malactápok megfelelőek, depresszív érték alattiak voltak mindegyik gyártó esetében.

### 4.3.1. Marker mikotoxin meghatározás

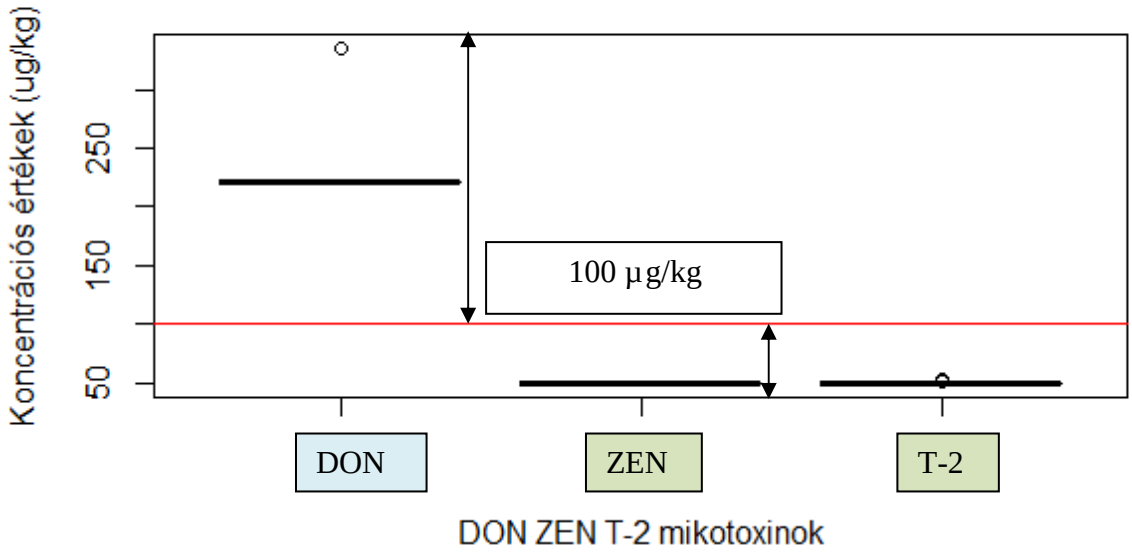
További vizsgálataim a depresszív érték feletti – DON és ZEN toxinokkal szennyezett – mintákra irányultak. A kutatás célja statisztikai elemzések alapján a DON, mint marker toxin bizonyítása sertés keveréktakarmányokban. A statisztikai elemzésekhez az R programnyelv (Ihaka és Gentleman, 1996) RStudio (RStudio Inc.) grafikus kezelőfelületét használtam. A mikotoxinok nagyságrendbeli szennyezettség mértékének kifejezésére *boxplot* ábrázolást végeztem. A 15. ábrán az összes **Σ*n*=45** tápminta mikotoxinok szerinti (>LOD =LOQ értéken/mikotoxinonként) ábrázolását láthatjuk, X-Y-Z gyártótól. Az ábrán látható a depresszív érték feletti *n*=5 kantáp, amelyek mind a DON (400 µg/kg felett vannak) mind a ZEN esetében (150 µg/kg felett vannak) eltérnek a többitől. Az ZEN értékek a deoxinivalenol mikotoxinok koncentrációs nagyságrendjében (>100 µg/kg/nyíllal jelölve) helyezkednek el. A piros trendvonalak a depresszív értékeket jelölik, mely DON esetében 400 µg/kg, F-2-re vonatkozóan pedig 150 µg/kg.




**15. ábra:** Az Σ*n*= 45 sertéstáp (X, Y, Z gyártótól) koncentrációs értékeinek (mediánjainak) *boxplot* ábrázolása

A statisztikai elemzést és *boxpolt* ábrázolást külön elvégeztem a depresszív értékek alatti ***n*=40** mintára is. A 16. ábrán látható a DON toxin szennyezettség mértéke, ami egy nagyságrenddel nagyobb (>100 µg/kg) az F-2 és T-2 toxinokhoz (10-100 µg/kg) képest. A

trendvonalat pirossal 100 µg/kg értéknél húztam meg, hogy a koncentrációs és nagyságrendbeli különbségek láthatók legyenek (ezért volt szükség az RStudio *boxplot* ábrázolását is használnom az eredmények bemutatásához). Az ábra torzultsága is a nagyságrendbeli különbségekből adódik, de célja pontosan ezek bemutatása. A kivastagított vonalak a koncentrációs értékek mediánjait jelzik toxinonként.




**16. ábra:** Az *n*=40 sertéstáp minta mediánjainak (koncentrációs értékeinek) *boxplot* ábrázolása

A 15. és 16. ábrákat összehasonlítva azt a következtetést vontam le, hogy a DON toxin irányérték (depresszív érték) felett mikotoxinokkal (DON, ZEN, T-2) szennyezett sertés keveréktakarmányok esetében lehetségesen megjelölhető, mint marker toxin a ZEN toxinra vonatkozóan, de szükséges további elemző statisztika ennek feltárására.

A feltáró statisztikai elemzéseket is elvégeztem a DON toxin marker jellegének bizonyításához.

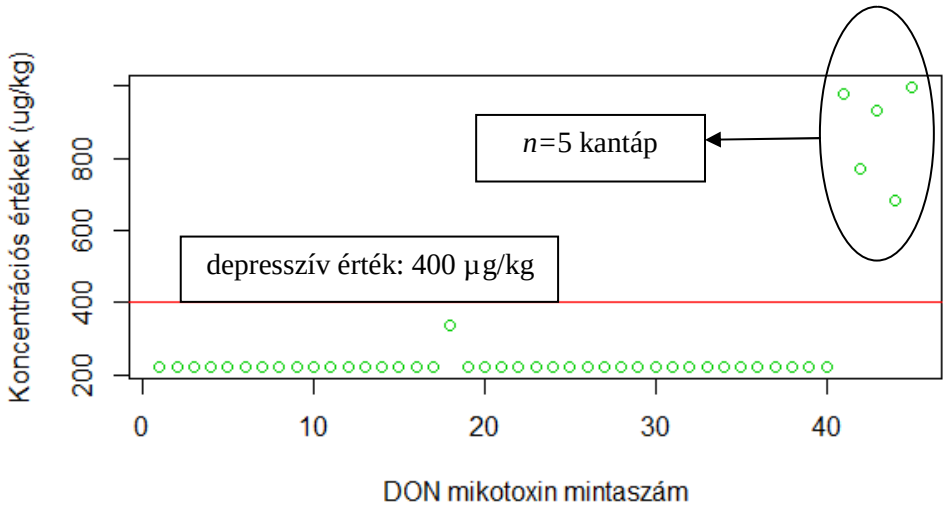
A mérési eredményeim átlagait, a mediánt, ferdeséget, csúcsosságot (lapultság) és az ezekhez tartozó szórási értékeket (SD) a 40. táblázatban foglaltam össze Σ*n*=45 mintára vonatkozóan.

**40. táblázat:** A feltáró statisztikai elemzés eredményei Σ*n*=45 mintára vonatkozóan

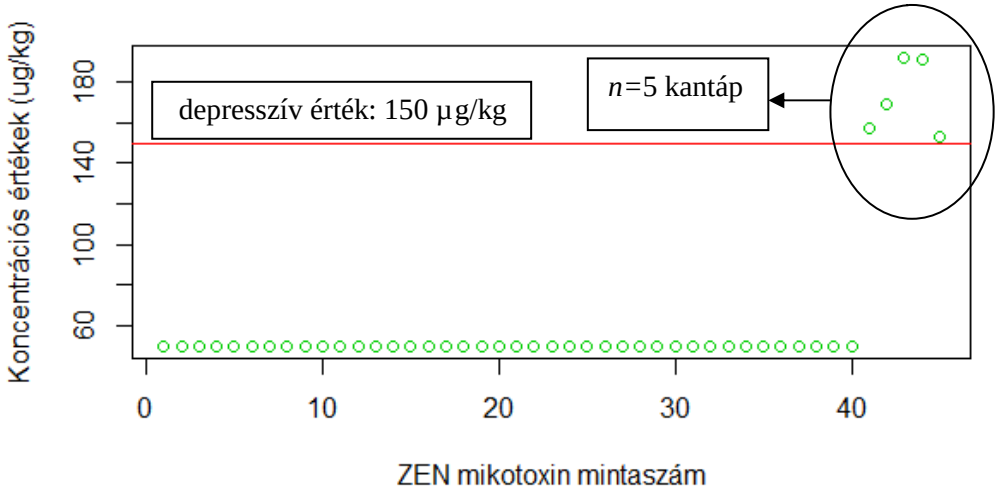
| | Átlag (µg/kg) | Median (µg/kg) | Minimum (µg/kg) | Maximum (µg/kg) | Standard deviation | Torzítottság | Torzítottság állandó hibája | Csúcsosság | Csúcsosság állandó hibája |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **DON** | **297** | **222** | 222 | 997 | 210 | 2.62 | 0.35 | 5.61 | 0.69 |
| **ZEN** | **64** | **50** | 50 | 192 | 39 | 2.56 | 0.35 | 5.06 | 0.69 |
| **T-2** | **52** | **50** | 50 | 55 | 1 | -0.25 | 0.35 | -0.62 | 0.69 |

Standard deviation: szórás

A rendkívül nagy szórás a DON és a ZEN esetében azt jelezheti, hogy kiugró értékek is lehetnek a vizsgálati csoportban. Ezért olyan ábrázolást alkalmaztam, amellyel a kiugró értékek megfelelően elkülönülnek a többitől. Minden minta (Σn=45) DON és ZEN koncentrációs értékeit ábrázoltam a 17. a-b) ábrákon, és itt egyértelműen *n*=5 minta elkülönül, mint kiugró értékek.




**17. a) ábra:** A kiugró, mért koncentráció értékek megállapítása, DON mikotoxin mérési eredményeinek (>LOD =LOQ értékként) ábrázolása az összes sertéstápra vonatkozóan




**17 b) ábra:** A kiugró, mért koncentráció értékek megállapítása, ZEN mikotoxin mérési eredményeinek (>LOD =LOQ értékként) ábrázolása az összes sertéstápra vonatkozóan

Ezt az öt mintát kihagytam a további statisztikai elemzésből, azért, hogy megállapíthassam van-e kapcsolat (és ha van, milyen) a DON és a ZEN értékek között, ha nem határérték feletti eredményeket mérünk. A normalitás vizsgálatok és a mintaszám figyelembevétele alapján konzervatív becslésként, nemparaméteres (robosztus) módszereket használtam a korrelációs elemzéshez és az ANOVA tesztekhez. A vizsgált koncentráció tartomány a három mikotoxinnál (DON, ZEN, T-2) különböző a sertéstakarmány mintákban, így adat előkezelési (skálázási) módszerként standardizálást alkalmaztam. Spearman rangkorrelációs-, Gamma és Kendall tau korrelációs együtthatókat számítottam, amelyeket STATISTICA Ver. 11.0 szoftver (StatSoft, Tulsa, USA) segítségével határoztam meg. Az eredményeket a 41. táblázat mutatja be, a vizsgált adatbázis 40 mintát tartalmazott, kiugró értékek nélkül.

**41. táblázat:** A három nemparaméteres korrelációs teszt eredményei

| Spearman rangkorrelációs koefficiens | | | |
|---|---|---|---|
| | **DON** | **ZEN** | T-2 |
| **DON** | 1.0000 | 0.4263 | 0.0251 |
| **ZEN** | 0.4263 | 1.0000 | -0.2556 |
| T-2 | 0.0251 | -0.2556 | 1.0000 |
| Gamma korrelációs koefficiens | | | |
| | **DON** | **ZEN** | T-2 |
| **DON** | 1.0000 | 0.3124 | 0.0014 |
| **ZEN** | 0.3124 | 1.0000 | -0.2024 |
| T-2 | 0.0014 | -0.2024 | 1.0000 |
| Kendall tau korrelációs koefficiens | | | |
| | **DON** | **ZEN** | T-2 |
| **DON** | 1.0000 | 0.3187 | 0.0013 |
| **ZEN** | 0.3187 | 1.0000 | -0.1863 |
| T-2 | 0.0013 | -0.1863 | 1.0000 |

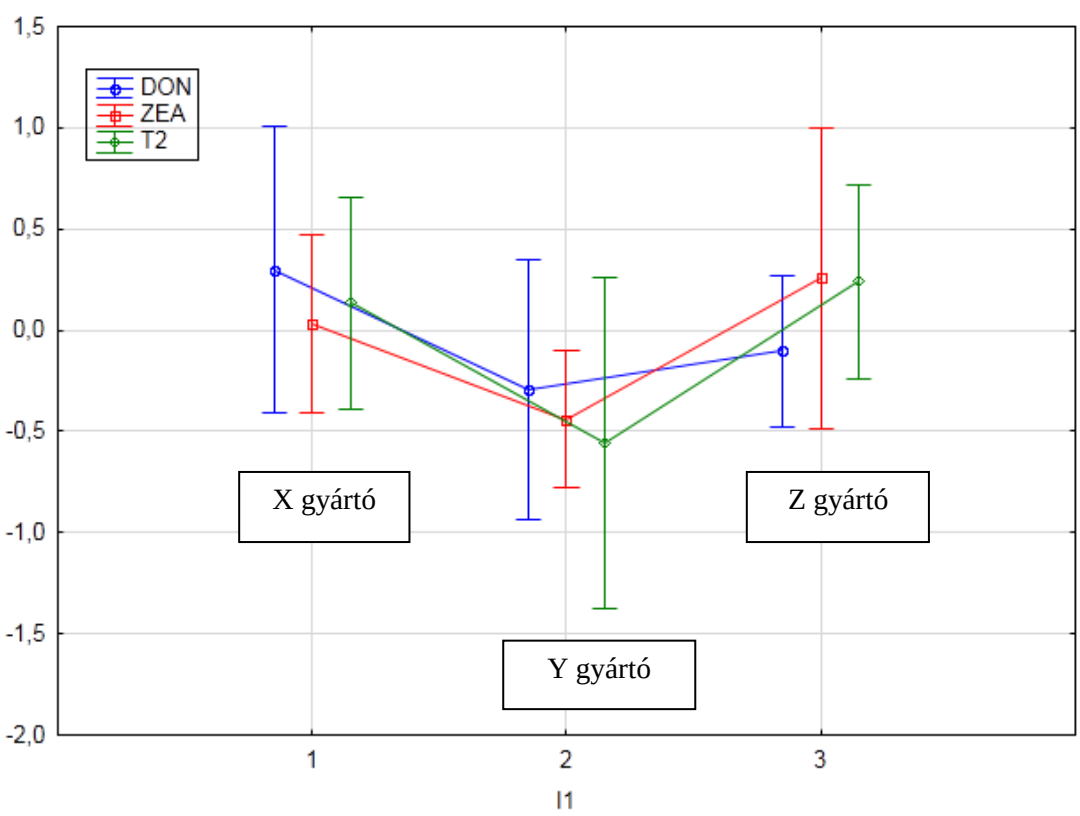
Mindhárom technika azt mutatja, hogy a DON és a ZEN változók szignifikánsan korrelálnak (piros színnel kiemelve: α = 0,05) és a T-2 mikotoxin értékek nem korrelálnak ezek közül egyikkel sem. A robusztus technikaként ismert, Friedman ANOVA-teszt alapján határoztam meg, hogy a változók (DON, ZEN, T-2) medián értékei között van-e szignifikáns különbség. Az adatbázisban az eredmény $p = 0{,}84946$ (α = 0,05 szinten), ami azt jelenti, hogy a három mikotoxin (DON, ZEN, T-2) koncentráció értékeinek mediánjai nem különböznek lényegesen (szignifikánsan) egymástól. Megállapítható, hogy a ($n$=40 minta esetében) határérték alatt szennyezett sertéstáp mintáknál is találtam (ebben az esetben korrelációs kapcsolatot) kapcsolatot a DON és a ZEN mikotoxin koncentrációs eredmények között, de a T-2 toxinnal nem.

Az elemzés másik célja az volt, hogy megtudjuk a különböző gyártók (három) és a tápfajták (három) mintái különböznek-e vagy sem egymástól a statisztikai értékelés szerint. Két csoportosító változót (indikátorok) adtam az adatokhoz erre a célra, és faktoriális ANOVA tesztet használtam az elemzéshez. Ez a módszer alkalmas a csoportosító változók szignifikanciájának a tesztelésére egyenként, és együttvéve is. A különböző gyártók jelölése: az 1., 2. és 3. mint első indikátor (I1= X, Y, Z gyártók); a három sertés takarmány minta jelölése: 1., 2. és 3. mint a második indikátor (I2= koca, kan, malac táp). A faktoriális ANOVA modellt a 42. táblázat mutatja be.

**42. táblázat:** A két indikátorváltozó szignifikancia tesztje *(I1 = különböző gyártók, I2 = különböző sertéstápok)*

| | Test | Value | *F*-value | Effect, df | Error, df | *P*-value |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Intercept | Wilks | 0.979214 | 0.212275 | 3 | 30.00000 | 0.887101 |
| "I1" | Wilks | 0.519176 | 3.878501 | 6 | 60.00000 | 0.002453 |
| "I2" | Wilks | 0.622416 | 2.675339 | 6 | 60.00000 | 0.022861 |
| "I1"*"I2" | Wilks | 0.292732 | 5.337774 | 9 | 73.16272 | 0.000014 |

Megállapítottam, hogy mindegyik csoportosító változó („I1, I2”) jelentős különbséget mutat egyenként, és együtt (kölcsönhatásukban "I1"*"I2") is, ami azt jelenti, hogy a különböző gyártók sertés takarmányai és a három minta típus is jelentősen eltérnek egymástól mikotoxin koncentrációjuk vizsgálata alapján. A mikotoxin koncentrációk változását gyártók szerint (X, Y, Z) a 18. ábra mutatja be.




**18. ábra:** Mikotoxin koncentrációk (DON, ZEN, T-2) változása gyártók szerint. Súlyozott értékek ábrázolása az y tengelyen, ANOVA alapján. A pontokhoz tartozó függőleges vonalak jelölik a konfidencia sávokat (0,95)

Az x tengelyen a gyártók jelölése történt 1., 2., 3. (X, Y, Z gyártó) az ábrán található összekötő vonalak a különböző gyártók összetartozó mikotoxin különbségeit mutatják.

A korábban megállapított eltérő mikotoxin koncentrációk is igazolják, hogy a különböző helyekről származó hasonló minták esetében a DON toxin marker a ZEN toxinra, ebben az esetben nemcsak az irányérték feletti szennyezettségre vonatkozóan, hanem jelző értékű a ZEN szennyezettség előfordulására is takarmányozási irányérték alatt szennyezett minták esetében (korrelációs kapcsolat). Következésképpen DON mikotoxin szennyezettség előfordulása esetében valószínűsíthető a ZEN toxin jelenléte is a mintamátrixokban.

Vogelgsang és munkatársai (2017) hasonló megállapításra jutottak búza minták vizsgálatai során, amelyben Pearson korrelációs koefficiens analízisekben a DON és a ZEN toxinok között szignifikáns összefüggés mutatkozott. Eredményeik összehasonlíthatók saját mérési eredményeimmel, mert vizsgálataimhoz használt sertés takarmánykeverékek fő alkotórésze a búza volt.

Megállapítható, hogy a sertéstakarmányok DON toxin szennyezettsége egy nagyságrenddel nagyobb a másik két mikotoxinhoz képest. A zearalenon és a T-2 toxinok szennyezettségének mértéke hasonló volt, tízes nagyságrendben található (10-100 µg/kg). A deoxinivalenol toxin markernek bizonyult az $n$=5 depressszív érték felett szennyezett kantáp esetében a zearalenon toxinra, de nem volt jelző értékű a T-2-re. Élelmiszer-biztonsági szempontból figyelemfelkeltő az a tény, hogy minden mintában kimutatható (>LOD) értékben voltak jelen a mikotoxinok.

A DON toxin lehetséges marker jellegének vizsgálatával hazai elemzés is foglalkozott (Búza és Marthné Schill, 2010), amelyben számos gabona- és takarmányalapanyagot valamint takarmánykeveréket vizsgáltak több toxinra vonatkozóan. Megállapításuk szerint *„az eredmények elemzése során a deoxinivalenolt (DON toxin) megkülönböztetett figyelem illeti, mert marker toxin a Fusarium-ok esetében. Ha a DON jelen van, akkor biztosan volt Fusarium gombafertőzés, és a tételben jelen van a zearalenon toxin is, hozzá képest egy nagyságrenddel alacsonyabb szinten, ahogy a többi trichotecén vázas toxin is, közülük a leggyakrabban előforduló T-2 toxin.”*. Vizsgálataik több más mikotoxinra is kiterjedtek, nem kutatták külön az általam kiemelt három toxin szennyezettségi kapcsolatait. Következtetésük azonban alapjaiban megegyezik az általam végzett mérések során kapott eredményekkel, amelyeket a három toxin esetében saját vizsgálataimmal igazoltam.

### 4.4. DON szennyezettség

Az időjárási tényezők figyelembevétele, időjárási adatokkal való mikotoxin szennyezettségi szintek összehasonlítása nemcsak átlagolt éves hőmérsékleti- és csapadék eredményekkel szükséges, hanem az éveken belüli évszakok időjárási adataival történő elemzés is elkerülhetetlen.

Kutatásomban gabonák – búza, kukorica – valamint élelmiszerek – liszt, száraztészta – deoxinivalenol mikotoxin szennyezettségét vizsgáltam egy hosszabb, 2008-2015 közötti idő periódusban Magyarországon. Az eredményeket (adatbányászatból - hatósági adattáblázatból/3.1. fejezetben) a magyar időjárási adatokkal vetettem össze (adatok forrása a magyar Országos Meteorológiai Szolgálat hivatalos közlései alapján: *Légkör* tudományos folyóirat, 2008-2015 év/53-61 évfolyamok) és értékeltem (kategorizálással)

A mérési eredményeket (éves átlagkoncentráció±szórás) valamint az időjárási adatokat a 43. táblázat mutatja be.

**43. táblázat:** Búza, kukorica, liszt, száraztészta minták DON toxin szennyezettsége[a] (koncentrációs átlagérték*±szórás/SD: µg/kg) továbbá az időjárási adatok 2008- 2015 között Magyarországon

| **Meghat.** | **Időjárási adatok** | **Érték** | **2008** | **2009** | **2010** | **2011** | **2012** | **2013** | **2014** | **2015** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Éves | Átlag hőmérséklet | ° C | 11,5 | 5,8-13,1 | 10-11 | 10,9 | 11,4 | 11,08 | 11,95 | 11,72 |
| Tavasz | | | 9-13 | 10-14 | 8-14 | 11-12 | 10-12 | 10-11 | 12-13 | 11-12 |
| Nyár | | | 20-22 | 19-23 | 20-22 | 20-22 | 20-22 | 20,7-21,7 | 20-21 | 22-23 |
| Ősz | | | 10-12 | 8-13 | 8-11 | 10-11 | 11-13 | 11-12 | 11-12 | 11-12 |
| Tél | | | -1 +3 | -1 +2 | -2 +1 | -2 0 | -5 +2 | 0 +1 | 2,58 | 2,1 |
| Éves | Átlag csapadék | mm | 579 | 598 | 959 | 350 | 470,4 | 649,6 | 739,8 | 538,9 |
| Tavasz | | | 50-200 | 25-200 | 50-350 | 25-100 | 70-110 | 200-250 | 100-200 | 75-100 |
| Nyár | | | 100-400 | 100-400 | 150-400 | 50-260 | 70-190 | 80-120 | 200-300 | 100-175 |
| Ősz | | | 25-130 | 25-240 | 150-250 | 25-100 | 100-160 | 90-270 | 100-350 | 150-300 |
| Tél | | | 30-110 | 100-225 | 100-200 | 50-175 | 90-180 | 150-300 | 50-200 | 133,9 |
| **Minta[a]** | **Mikotoxin** | **Érték** | **Koncentráció (µg/kg)** | | | | | | | |
| Búza | DON | átlag* | 417 | 252 | 826 | **1677** | 71 | 180 | 174 | 491 |
| | | SD | 506 | 74 | 1084 | 2622 | 108 | 368 | 147 | 607 |
| Kuk. | DON | átlag* | 246 | 182 | 158 | 742 | 168 | 222 | 854 | 379 |
| | | SD | 147 | 73 | 237 | 1055 | 414 | 0 | 969 | 577 |
| Liszt | DON | átlag* | 89 | 353 | 241 | 362 | 40 | 183 | 109 | 85 |
| | | SD | 71 | 429 | 150 | 518 | 0 | 85 | 90 | 73 |
| Sz.tészta | DON | átlag* | 203 | 209 | 423 | 300 | 180 | 83 | 52 | 40 |
| | | SD | 158 | 48 | 283 | 156 | 79 | 76 | 29 | 0 |

*[a]: mintaszámok, évenkénti megoszlásai valamint ezek értéktartományok szerinti elhelyezkedései a 3.1.1 fejezetben találhatók*

**számítás módszertana: <LOQ értékek LOQ-ra állítva*

*Meghat.: meghatározás*

*Kuk.: kukorica*

*Sz.tészta: száraztészta*

A táblázatban közölt koncentrációs átlagértékek számítása hasonlít az előző fejezetekben ismertetett módszertanhoz (<LOQ =LOQ értéken számolva).

A hatósági adatbányászat során azzal a problémával szembesültem, hogy a különböző mérési módszerekkel történt eredményközlések során nincs feltüntetve, hogy detektálható vagy nem detektálható volt az érték. Az eredményközlések minden esetben akkor is, ha például nem detektálható a szennyezettség: *<LOQ-ként =használt vizsgálati módszer LOQ értéke* tüntetik fel. Ennek következtében az eredmények ugyan értékelhetők, de így valószínűsíthető a koncentrációk felülbecslésének nagyobb aránya, mivel LOD értékre így nem tudjuk beállítani az esetlegesen nem detektálható mintákat. A hatósági adattáblázatokban a mintáknál (eredményeiknél) azonban nyomonkövethetők a mérési módszerek szabványai, így az LOD értékek elérésének lehetőségei megvalósíthatók lennének.

Összességében elmondható, hogy az értékelésem során az összes mintát figyelembe tudtam venni, számolni tudtam velük a fent említett módszerrel.

A búza ($\Sigma n$=305) DON toxin szennyezettsége szempontjából élelmezési határérték (13. táblázatban) feletti koncentrációs értékeket találtam a 2011-es évben vizsgált minták esetében (átlag: 1677 µg/kg). A 2011-es év melegnek és szárazнak bizonyult, az éves középhőmérséklet 10,9 °C és az éves átlag csapadékmennyiség 350 mm volt (OMSZ megállapítás: *„szélsőségesen száraz év”*), amely 2008 és 2015 között a legalacsonyabb évi csapadék átlagérték. A 2010-es évet vizsgálva, az évi átlag középhőmérséklet 10-11 °C között alakult, az évi átlagcsapadék mennyisége viszont igen magasnak bizonyult, 959 mm volt, amely 2008-2015 között a legmagasabb átlagcsapadék érték. A 2010, 2011, 2013, 2015-höz tartozó évszakokat elemezve (búza fuzáriózis kockázatának szempontjából) a tavasz és a nyár hőmérsékleti és csapadék adatait hasonlítottam össze. 2010-ben a tavasz átlaghőmérséklete 8-14 °C, 2011-ben 11-12°C között alakult, a nyári hőmérsékletben nem volt különbség (20-22 °C között). Mindegyik évet megelőző téli átlaghőmérsékleteket is figyelembe véve nem volt nagyobb különbség (2009/2010-2010/2011 tél/teljes téli időszakot figyelembe véve). Az évszakokhoz tartozó csapadék mennyiségeket elemezve 2010-ben a nyár (150-400 mm) és a tavasz (50-350 mm) is sokkal csapadékosabb volt, mint 2011-ben (50-260 mm, 25-100 mm). A 2009-2010 (teljes téli időszak) télhez tartozó csapadék mennyiségi adatok közel azonosak (100-225 mm között alakult) voltak. A 2013, 2015-ös éveket vizsgálva a tavasz és a nyár átlaghőmérsékletei nem sokkal különböztek: 10-11 °C/11-12°C; 20,7-21,7°C/22-23°C között alakult. Azonban elmondható, hogy 2008-2015 között ezekben az években 2013 meleg, 2015 igen meleg volt (időjárási adatok kategorizálása alapján). Az évi csapadék mennyiségek

átlagosnak bizonyultak (649,6 mm; 538,9 mm). A téli időszak átlagcsapadék mennyiségei 50-300 mm között alakultak (teljes téli időszakot figyelembe véve)

A kukorica ($\Sigma n$=108) esetében nem találtam határérték (élelmezési) feletti átlag DON értékeket (2008-2015 között), azonban a 2014-es évben (854 µg/kg) volt a legmagasabb a szennyezettség. A 2014-es év igen meleg (évi átlaghőmérséklet 11,95 °C), 2008 és 2015 között is a legmelegebb éves átlagértékű, igen csapadékos (évi átlagcsapadék: 739,8 mm) volt. A meteorológusok (WMO, OMSZ alapján) a 2014-es évet az eddigi globálisan legmelegebbnek határozták meg (Vincze, 2015). Az éves csapadék átlagértékeket vizsgálva 2008-2015 között a második (első a 2010-es év) legmagasabb évi átlagcsapadék értékű (mm). Megállapítható, hogy a nyári (200-300 mm) valamint az őszi (100-350 mm) magasabb csapadékmennyiségek befolyásolhatták a DON szennyezettség mértékét, amely az előzőekben ismertetett időjárás-mikotoxin szennyezettség összefüggését bizonyíthatja. Azonban, az igen meleg éves átlaghőmérséklettel is számolnunk kell, amellyel egy újabb kockázati tényezőt állapíthatunk meg a DON szennyezettség szempontjából kukoricára vonatkozóan a csapadék mennyiség és eloszlás mellett.

A búzaliszt minták ($\Sigma n$=179) DON szennyezettségét elemezve 2008 és 2015 között, megállapítható, hogy határérték felett nem találtam átlagkoncentrációs értéket. Azonban a 2009 és 2011-es években magasabb eredmények figyelhetők meg: 2009-ben 353 µg/kg, 2011-ben 362 µg/kg. A 2011-es évet kiemelve vizsgálataimból megállapítottam, hogy a búza DON koncentrációs átlagértéke is magasabbnak bizonyult (1677 µg/kg). Következtetésként megállapítható, hogy a nagyobb mértékben DON toxinnal szennyezett búza évében magasabb lehet a búzaliszt DON szennyezettsége is. Korábbi kutatások megállapították, hogy a búza malmi feldolgozása során - valamint korszerű színválogató rendszerek beépítésével a szemek válogatási technológiai folyamatába - csökkenthető a DON szennyezettség mértéke (Kecskésné et al., 2016/a, b).

Száraztészta minták ($\Sigma n$=226) eredményeit vizsgálva a 2010, 2011-es éveket emelhetjük ki, mint magasabb DON toxin szennyezettségűeket (423 µg/kg illetve 300 µg/kg). A meghatározott két év a korábban említett búza magasabb DON szennyezettség kritikus éveivel azonos. Határértéket meghaladó átlagkoncentrációs eredményeket ugyan nem találtam (2008-2015), de megállapítható, hogy a búza magasabb DON toxin szennyezettségű éveiben szükséges a feldolgozott termékek fokozott monitorozása.

Kutatásomból megállapítást nyert, hogy az időjárási körülmények, mint a hőmérséklet és csapadékmennyiség-eloszlás, hatással van a búza és a kukorica DON toxin szennyezettségének mértékére. A búza mintákat elemezve egy újabb kockázati tényezőt határozhattam meg, amely véleményem szerint a szélsőségesen száraz időjárás volt (igen alacsony évi átlagcsapadék mennyiséggel). Kukorica minták DON toxin szennyezettségét vizsgálva az éves csapadékeloszlás és mennyiség mellett újabb kockázatot jelölhettem meg, amely az igen meleg évi átlaghőmérséklet volt. Megállapítható, hogy az eddig meghatározott (korábbi kutatásokban búzánál, kukoricánál) időjárási viszonyok – mátrix - DON toxin szennyezettség összefüggésben a „más szélsőséges időjárási viszonyok" figyelembe vétele is szükséges lehet a monitoring vizsgálatok tervezésekor. Különösen fontos ez a jövőben, ahol előrejelzések (WMO, OMSZ alapján) a szélsőséges időjárási viszonyok gyakoriságára figyelmeztetnek, a Föld átlaghőmérsékleti értékének nagyobb mértékű emelkedése mellett.

Pleadin et al. (2012-ben megjelent két tanulmányukban) a *Fusarium* mikotoxinok (DON, ZEN, T-2, $FB_1$) szennyezettségének változásait vizsgálták kukoricában, Horvátországban. Kutatásaikhoz horvát időjárási adatokat használtak fel, és összefüggést állapítottak meg a magasabb mikotoxin szennyezettség és a szélsőséges időjárási viszonyok között. Publikációjukban azonban az időjárási tényezőket a mikotoxin szennyezettség alakulására közvetett hatásként említik, amelyek elsősorban a fitoimmunításra, fokozott rovar és mikroorganizmus kórokozásokra vannak hatással. Ennek következtében alakulhat ki a penészgombák térhódítása, az időjárási stresszhelyzet miatt az esetleges fokozottabb mikotoxin termelésük.

Pleadin és munkatársai (2013) egy évvel később megjelent tanulmányukban gabonafélék mikotoxin szennyezettségének vizsgálatai során szintén összefüggéseket tártak fel a mikotoxin szennyezettség és a csapadékos időjárás között. Továbbá irodalmi áttekintésükben (Pleadin et al., 2013) „igen meleg" klímával való magasabb mikotoxin szennyezettség összefüggésének lehetőségét emelték ki, amelyet megfogalmazásuk szerint további vizsgálatokkal szükséges igazolni. Véleményem szerint kutatásommal igazoltam hazai körülményeket elemzve, a magasabb mikotoxin szennyezettség - szélsőséges időjárási jelenségek közötti lehetséges kapcsolatot.

A mikotoxin szennyezettség számításának módszertanára azonban több irányzat is létezik, ebből adódhat, hogy a különböző publikációkban széleskörűen találhatunk változatos eredményeket. Az EFSA által közölt (2010) állásfoglalásban, a humán expozíció becsléséhez/kockázatbecsléshez használható mikotoxin szennyezettségi adatok felhasználásához kapunk útmutatást. Vannak olyan kutatók, akik LOD feletti koncentrációs

értékekkel is számszerűleg végzik a számításokat (Pleadin et al., 2013; Bryla et al., 2018), még mások az LOD alatti értékeket figyelmen kívül hagyják (Bryla et al., 2018; Park et al., 2018). Fontos, hogy ilyen esetekben a szerzők által pontosan leírt módszertan alapján vegyük figyelembe ezeket az eredményeket a saját kutatási céljainknak megfelelően.

## 4.5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Saját mérések és a hazai időjárási adatok alapján bizonyítottam a gabonák magasabb toxin szennyezettségének összefüggését a meleg klímával.
2. Vizsgálataimmal a DON toxint, mint marker mikotoxint (a DON-ZEN-T-2 közül) bizonyítottam a ZEN toxinra vonatkozóan, határérték felett szennyezett minták esetében. A T-2 toxinra vonatkoztatva a DON szennyezettség jelző értékű a T-2 mikotoxin szennyezettség jelenlétére.

   *(**H. Tima**, A. Taczmann-Brückner, Cs. Mohácsi-Farkas, G. Kiskó: Fusarium mycotoxins in cereals harvested from Hungarian fields. **FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS PART B - SURVEILLANCE** 9:(2) pp. 127-131. (2016), **IF:1,723**)*

   *Független idéző: 10 Függő idéző: 2 Összesen: 12*

3. A takarmányozáshoz használt növényi alapanyagok *Fusarium* mikotoxin (DON, ZEN, T-2) szennyezettségének vizsgálatai során is a DON-t, mint marker toxint tudtam kijelölni és marker jellegét bizonyítani különböző mintamátrixokban, irányérték alatt szennyezett minták esetében. A DON toxin marker toxinként való alkalmazása a mikotoxinok ELISA módszerrel történő mikotoxin mérések költségtervezését és hatékonyságát segíti.

   *(**H. Tima**, E. Kecskésné Nagy, A. Rácz, G. Kiskó, Cs. Mohácsi-Farkas: Takarmányozásra használt növényi alapanyagok DON, F-2, T-2 mikotoxin vizsgálata ELISA-módszerrel/ DON, F-2 and T-2 mycotoxin assay of plant-based feedstock raw materials using the ELISA method. **ÉLELMISZERVIZSGÁLATI KÖZLEMÉNYEK** 63:(2) pp. 1548-1563. (2017).)*
4. Sertés takarmánykeverékek DON, ZEN, T-2 szennyezettségének vizsgálata során a DON toxin marker volt a ZEN toxinra, depresszív irányérték felett és alatt szennyezett minták esetében is. A DON toxin marker tulajdonságát általánosságban vizsgálva többféle mintamátrixban (gabonákban, különböző növényi eredetű takarmányozási alapanyagokban, gabona alapú sertés keveréktakarmányokban) megállapítást nyert, hogy kiküszöbölhető a mátrixhatás/mátrixösszetétel hatása a marker toxin meghatározás során.

   *(**H. Tima**, A. Rácz, Zs. Guld, Cs. Mohácsi-Farkas, G. Kiskó: Deoxynivalenol, zearalenone and T-2 in grain based swine feed in Hungary. **FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS PART B - SURVEILLANCE** 9:(4) pp. 275-280. (2016), **IF= 1,723**)*

   *Független idéző: 4 Összesen: 4*

5. A szélsőséges időjárási hatásokat újabb kockázati tényezőként azonosítottam a magas DON szennyezettségre vonatkozóan. Kutatásommal olyan adattáblázatot hoztam létre, amelynek segítségével a jövőben is folytatható és az elmúlt időkkel összehasonlítható eredmények állnak rendelkezésre, ezzel segítve a DON szennyezettség kockázatának előrejelzését a klímaváltozással összefüggésben.

   (***H. Tima***, *A. Berkics, Z. Hannig, A. Ittzés, E. Kecskésné Nagy, Cs. Mohácsi-Farkas, G. Kiskó: Deoxynivalenol in wheat, maize, wheat flour and pasta: surveys in Hungary in 2008-2015.* ***FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS PART B - SURVEILLANCE*** *11(1): pp. 37-42. (2018), 2017:****IF=2,407****)*

   *Független idéző: 1 Összesen: 1*

# 5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A doktori munkám során számos példán keresztül vizsgáltam a *Fusarium* mikotoxinok kutatásában rejlő, máig sem tisztázott területeit. Ilyenek a marker toxin, valamint gyakorlati bizonyítása, alkalmazása, a multitoxikus előfordulások és összefüggések elemzése, klímaváltozás szerepe a mikotoxin szennyezettségben. Elvégzett kísérleteimmel és elemzéseimmel törekedtem a *Fusarium* mikotoxin kutatás területén gyakorlati szempontból alkalmazható kutatást létrehozni.

A mikotoxin szennyezettség, ezen belül a *Fusarium* mikotoxinok élelmiszer és takarmány-biztonsági jelentősége hazánkban kiemelkedő. A klímaváltozás felgyorsulásának hatására az ilyen jellegű kutatások a mikrobiológia, a kémiai analitika és az élelmiszertudomány nélkülözhetetlen részeivé válnak. Aktuális helyzetképet adnak a jelenlegi mikotoxin szennyezettség mértékéről, összefüggéseket tárnak fel a multitoxikus előfordulásokról, ezek veszélyeiről és bizonyítják az időjárási tényezők jelentős szerepét a szennyezettségek mértékében.

Ebben az irányban az általam végzett mérések, elemzések széleskörű rálátást adnak az aktuális (élelmiszer- és takarmánybiztonsági szempontból) *Fusarium* mikotoxinok: DON, ZEN, T-2 hazai szennyezettség helyzetére. Kutatásom az élelmiszertudomány széles körét érintik az élelmiszeripari és takarmányipari alapanyagoktól, a takarmányokon keresztül az egyes élelmiszeripari termékekig.

A *Fusarium* mikotoxinok között is kiemelkedő jelentőségű a DON, ZEN, T-2 toxinok multitoxikus előfordulása és ezek tényleges megjelenése, szennyezettségük mértéke az egyes mintamátrixokban, amely olyan új, széleskörű képet ad a *Fusarium* mikotoxinokról, amelyeket eddig kevésbé vizsgáltak. Ezzel egyidőben mivel hazai termesztésű és feldolgozású mintákat használtam fel kísérleteimhez, átfogó képet ad a Magyarországon előforduló *Fusarium* mikotoxin helyzetről (2008-2015).

Kutatásaim során bebizonyosodott, hogy a DON, ZEN, T-2 mikotoxinok közül a DON marker toxin, amelyet nemcsak korábbi kutatásokból származó kémiai stabilitása igazol, hanem magas mintaszámmal végzett kísérleteim is. A mérések során bizonyítást nyert, hogy a DON toxin markernek jelölhető ki a három mikotoxin: DON, ZEN, T-2 összefüggésében. További elemzések a jövőben is szükségesek más analitikai módszerekkel is. Azonban kutatásom utat nyitott ezen, terület mélyebb elmélyülésére, ilyen irányú további kutatások szükségességére.

A mikotoxinok kutatásában eddig nagy szerepet kapott klasszikus mikrobiológiai megközelítés– melyben a *Fusarium* fajok azonosításával kezdődtek kísérletek– hasznosságát, jelentőségét nem vitatom, azonban szükség van „gyorsabb", a gyakorlati életben alkalmazhatóbb és kevesebb laboratóriumi hátteret igénylő gyorsmódszerekre, elemzésekre, előrejelzésekre; elsősorban mikotoxinok mennyiségi meghatározására. Ezt teszi lehetővé a kisebb laboratóriumi hátteret és költségeket igénylő ELISA módszer. Az élelmiszer és takarmányipari vállalatok-vállakozások a felgyorsult piaci helyzetváltozások miatt, valamint a költséghatékonyság szükségességének következtében a gyorsabb eredményeket, előrejelzéseket produkáló elemzéseket preferálják. Saját laboratóriumi tapasztalataim alapján a leggyakrabban végzett *Fusarium* mikotoxin vizsgálatok a DON, ZEN, T-2 toxinok a gyakorlati, „üzemi-vállalati" életben. Ezért az ezekre irányuló kutatások nemcsak az elméleti tudomány, hanem a gazdasági élet számára is fontosak, hasznosak lehetnek. Ezt mutatta be kutatásom számos különböző mátrixot felhasználva. A marker toxinok meghatározása, kijelölése a gyakorlati felhasználásban a költséghatékonyságot a gyorsabb elemzéseket, eredményeket szolgálják.

Fontos megállapítás a mikotoxin szennyezettségek elemzésénél a modern matematikai-statisztikai módszerek felhasználása, amely könnyen elérhető a világhálón keresztül bármely élelmiszeripari vállalkozás számára így költséghatékony, és amely a kutatásomból is bizonyított előrejelző, összefüggéseket feltáró lehet. A jövőben szükség van többféle matemetikai-statisztikai módszer DON, ZEN, T-2 mikotoxin szennyezettség összefüggésének elemzésére és ezek összehasonlítására.

Dolgozatomban a fő irányvonal a magyarországi *Fusarium* mikotoxin helyzetkép, ezen belül is a DON, ZEN, T-2 toxinok bemutatása, továbbá az időjárási tényezők hazai összefüggésének viszgálata a mikotoxin szennyezettség szempontjából. A széleskörű, magas mintaszámot felhasználó kutatásomból a hazai mikotoxin szennyezettségről kaphatunk reprezentatív képet. Ez az elemzés bizonyíthatja a mikotoxin szennyezettség és a klímaváltozás összefüggését. Szükségesnek tartom a jövőben az ilyen irányú kutatás folytatását. Munkám alapjául szolgálhat egy 2008-2015 közötti idővonalon elindított magyarországi DON szennyezettség kutatásának az időjárási viszonyok változásával összefüggésben, így ennek hasznossága a jövő számára fog megtérülni. Az ebben rejlő információk a hazai klímaváltozás felgyorsulásának mértékére - valamint ezek befolyására a mikotoxin szennyezettség alakulásában - adhat válaszokat, így megteremti a magasabb mikotoxin szennyezettségre való felkészülés és ellene való védekezés lehetőségeit.

Elemzéseim alapján bizonyítást nyert, hogy a hatósági adatbázisokban rejlő hatalmas mérési eredményhalmaz kutatási célokra is hasznosítható. Hiszen nemcsak több évre visszamenőleg tudunk adatokhoz jutni, hanem ezek a mérések hitelesek, továbbá megbízható mintavételből származnak. Azonban, hogy az eredményeket célirányosan fel tudjuk használni, szükséges lenne a mérési eredmények közlése mellett jelezni, hogy az adott mikotoxin detektálható vagy nem detektálható volt-e a mintában és nemcsak az adott mérési módszer szerinti <LOQ értéket megadni.

# 6. ÖSSZEFOGLALÁS

Kutatómunkám során a *Fusarium* mikotoxinok közül a DON, ZEN, T-2 toxinok előfordulását, szennyezettségének mértékét valamint ezek összefüggéseit vizsgáltam különböző mátrixokban. A három mikotoxin közül marker toxint jelöltem ki és ezt vizsgálataimmal valamint matematikai-statisztikai elemzésekkel igazoltam többféle mintamátrixban, magas mintaszámmal: $\Sigma n$=1019. A toxinok előfordulására vonatkozóan időjárási tényezőket vettem figyelembe, melyel új kockázati klíma- időjáráshatást állapítottam meg, ilyen volt az igen meleg-száraz éghajlat. 2008-2015 közötti időperiódusra vonatkozóan a DON toxin szennyezettség mértékének változásait kutattam búza, kukorica, búzaliszt, száraztészta mintákban. Eredményeimet a hazai időjárási adatokkal vetettem össze ezzel olyan időjárás-DON toxin szennyezettség adattáblázatokat hoztam létre (3.1., 4.4 fejezet), amelyek a későbbi monitoring tervek, szennyezettség-időjárás hatások vizsgálatait, tervezéseit segíthetik. Összefüggés vizsgálatommal igazoltam a DON toxin szennyezettségre hatást gyakorló hazai időjárásváltozás tényét, ezzel a klímváltozás hatását a mikotoxin szennyezettség mértékére.

Mikotoxin méréseimet ELISA módszerrel végeztem, kísérleteim tervezésekor törekedtem a magas mintaszám és a széleskörű mátrixok felhasználására. Azért választottam ezt a vizsgálati módszert, mert gyors mennyiségi meghatározásokat tesz lehetővé és a gyakorlati életben előszeretettel használják. Nem igényel költséges, nagyobb felszereltségű laboratóriumi hátteret és a gazdasági és analitikai céloknak megfelelő. A három *Fusarium* mikotoxin kiválasztása (DON, ZEN, T-2) az élelmiszer- és takarmány-biztonsági kockázataik továbbá a laboratóriumi mérési gyakoriságaik alapján történt (mikotoxin kockázatok megjelölése alapján: irodalmi áttekintésben).

Kutatásomat négy témakörre osztottam, hogy ezzel is a reprezentatív felmérések, eredmények bemutatásának lehetőségét biztosítsam. Három témakörben különböző mátrixok felhasználásával igazoltam a DON toxin marker szerepét mind a határérték/irányérték felett mind a határérték/irányérték alatt mikotoxinokkal szennyezett minták esetében ZEN toxinra vonatkozóan. T-2 toxin esetében a szennyezettség jelenlétére mutatott marker jelleget a DON toxin.

Kutatásom témakörében végzett publikációim listáját az **M2.8.** melléklet tartalmazza.

## 7. SUMMARY

In my research I examined among of the *Fusarium* mycotoxins the occurrence and the degree of DON, ZEN, T-2 mycotoxin contamination and the correlations of toxins in different matrices. Among the three mycotoxins I have designated marker toxin, and this statement I proved with my studies and mathematical-statistical analyzes in several sample matrices with a high sample number: $\Sigma n$=1019. I have taken weather factors for the occurrence of toxins, with which I have identified new climate - weather conditions. For the period of 2008-2015 I researched for variations in the degree of DON toxin contamination in wheat, corn, wheat flour, pasta samples. I have compared my results with domestic weather data, with this I created a weather-DON toxin contamination data table that helps to investigate and plan subsequent monitoring plans, contamination-weather effects. I proved the fact of the domestic weather change with effect on DON toxin contamination, and the effect of climate change on mycotoxin contamination.

Mycotoxin measurements were performed using the ELISA method, for designing my experiments I used high sample numbers and wide matrices. I opted for this test method because it allows quick quantitative definitions and is used in practical life. It does not require a costly, well-equipped laboratory background and is suitable for economic and analytical purposes.

The choice of the three *Fusarium* mycotoxins (DON, ZEN, T-2) was also based on their laboratory measurements frequency and on food and feed safety risks. I have divided my research into four topics so that I can present representative surveys and results. Using different matrices in three different themes, I proved the role of the DON toxin marker with respect to ZEN both for in case of above and under the limit/guideline value of samples contaminated with mycotoxins. In the case of T-2 toxin, DON toxin showed a marker character to the presence of contamination.

The list of my publications in my research topic is in **M2.8**./Annex.

# 8. MELLÉKLETEK

## M1. IRODALOMJEGYZÉK

ÁDER, J. (2015), Áder János köztársasági elnök beszéde Párizsban, „COP 21" klímakonferencia, http://ensz.kormany.hu/ader-janos-koztarsasagi-elnok-beszede-parizsban-a-cop-21-klimakonferencian

AMBRUS Á., CSEH J., HÁMOS A., SZERLETICSNÉ T.M. (2009): "Gabonaalapú élelmiszerek fuzárium toxin szennyezettségének csökkentési lehetőségei", 1-33. p., In: Szeitzné Szabó, M. (Szerk.): *Magyar Élelmiszer-biztonsági Hivatal*

AMBRUS Á., SZEITZNÉ SZ.M. (2010): "Gabonaalapú termékek mikotoxin szennyezettségének élelmiszer-biztonsági értékelése", *Élelmiszer Tudomány Technológia*, Vol. LXIV, No.1., pp.10-14

APSIMON, J.W., BLACKWELL, B.A., BLAIS, L., FIELDER, D.A., GREENHALGH, R., KASITU, G., MILLER, J.D., SAVARD, M. (1990), „Mycotoxins from *Fusarium* species: detection, determination and variety", *Pure and Applied Chemistry*, Vol. 62, pp. 339-346

BANCZEROWSKINÉ, J., VILÁGI, J. (2010): „A Fumonizin $B_1$ ökotoxikológiai biotesztelése", 38-58. p., In: Kovács, M. (Szerk.): *Aktualitások a mikotoxin kutatásban*, Budapest: Agroinform Kiadó

BARNA-VETRÓ, I., GYÖNGYÖSI, Á., SOLTI, L. (1994), „Monoclonae antybody-based enzyme-linked immunosorbent assay for *Fusarium* T-2 and zearalenone toxins in cereals", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 60, pp. 730-731

BATA, Á. (2001): „Mikotoxinok meghatározásásnak analitikai módszerei", 20-29. p., In: Kovács, F. (Szerk.): *Penészgombák–mikotoxinok a táplálékláncban*, Budapest: MTA, Agrártudományok Osztálya

BATA, Á., HARRACH, B., ÚJSZÁSZI, K., KIS-TAMÁS, A., LÁSZTITY, R. (1985), „Macrociclyc trichotecene toxins produced by stachybotrys atra strains isolated in Middle Europe", *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 49, pp. 679-681

BENNETT, J.W., KLICH, M. (2003), "Mycotoxins", *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 16, No. 3, pp. 497-516

BIZOTTSÁGI AJÁNLÁS 2006/576/EK, "A deoxinivalenol, a zearalenon, az ochratoxin-A, a T-2, a HT-2 és a fumonizinek állati takarmányozásra szánt termékekben való előfordulásáról", *Európai Unió Hivatalos Lapja*, L 229/7

BIZOTTSÁGI AJÁNLÁS 2006/583/EK, "A Bizottság ajánlása: a gabonákban és gabonakészítményekben a *Fusarium*-toxin-szennyezés megelőzéséről és csökkentéséről" (2006. augusztus 17.), *Európai Unió Hivatalos Lapja*, L 234/35.

BIZOTTSÁGI AJÁNLÁS 2013/165/EU, "A T-2 és a HT-2 toxin gabonafélékben és gabonatermékekben való jelenlétéről", *Európai Unió Hivatalos Lapja*, L91/12

BIZOTTSÁGI RENDELET 466/2001, "Az élelmiszerekben előforduló egyes szennyező anyagok legmagasabb értékének meghatározásáról", *Európai Unió Hivatalos Lapja*, LO/77

BIZOTTSÁGI RENDELET 882/2004 EK, "A takarmány- és élelmiszerjog, valamint az állat-egészségügyi és az állatok kíméletére vonatkozó szabályok követelményeinek történő megfelelés ellenőrzésének biztosítása céljából végrehajtott hatósági ellenőrzésekről", *Európai Unió Hivatalos Lapja*, L 191/1

BIZOTTSÁGI RENDELET 401/2006/EK, "Az élelmiszerek mikotoxintartalmának hatósági ellenőrzéséhez használandó mintavételi és elemzési módszerek megállapításáról", *Európai Unió Hivatalos Lapja*, L70/12

BIZOTTSÁGI RENDELET 1881/2006/EK, "Az élelmiszerekben előforduló egyes szennyező anyagok felső határértékeinek meghatározásáról", *Európai Unió Hivatalos Lapja*, L 364/5

BIZOTTSÁGI RENDELET 1126/2007/EK, "Az élelmiszerekben előforduló egyes szennyező anyagok legmagasabb értékének meghatározásáról szóló 1881/2006 / EK rendeletnek a kukorica és kukoricatermékek *Fusarium*- toxinjainak tekintetében történő módosításáról", *Európai Unió Hivatalos Lapja*, L 255/14

BIZOTTSÁGI RENDELET 519/2014/EU, "A 401/2006/EK rendeletnek a nagy tételekre, a fűszerekre és étrend-kiegészítőkre vonatkozó mintavételi módszerek, a T-2 és HT-2 toxinra és citrininre vonatkozó alkalmassági kritériumok, valamint a szűréses vizsgálati módszerek tekintetében történő módosításáról", *Európai Unió Hivatalos Lapja*, L147/29

BOUTRIF, E., CANET, C. (1998), "Mycotoxin prevention and control in FAO programmes", *Revue de Médecine Vétérinaire*, Vol. 149, pp. 681–694

BOZSIK, A., BUJÁKI, G., BÜRGÉS, GY., CZENCZ, K. et al. (2011), "Mezőgazdasági üzemtan, Szántóföldi növénytermesztés és kertészet, Növényvédelem", In: *TAMOP 4.2.5, Pályázati könyvek*, http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/2011_0001_521_Novenyvedelem/ch01.html#id478592

BRYDEN, W.L. (2012), "Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security", *Animal Feed Science and Technology*, No. 173, pp. 134–158.

BRYLA, M., KSIENIEWICZ-WOZNIAK, E., WASKIEWICZ, A., SZYMCZYK, K., JEDRZEJCZAK, R. (2018), "Natural occurrence of nivalenol, deoxynivalenol, and deoxynivalenol-3-glucoside in Polish winter wheat", *Toxins*, Vol. 10(2), pp. 2-12

BULLERMAN, L.B., SCHROEDER, L.L., PARK, K.Y. (1983), „Formation and control of mycotoxins in food", *Journal of Food Protection*, Vol. 47, No. 8, pp. 637-646

BÚZA, L., MARTHNÉ SCHILL, J. (2010): „Mikotoxinok vizsgálati módszerei, eredményei, előfordulásuk a hazai takarmányokban", 13-19. p., In: Kovács, M. (Szerk.): *Aktualitások a mikotoxin kutatásban*, Budapest: Agroinform Kiadó

CAMPBELL, A.D., WHITAKER, T.B., POHLAND, A.E., DIVKENS, J.W., PORK, D.L. (1986), „Sampling, sample preparation and samplings plans for foodstuffs for mycotoxin analysis", *Pure and Applied Chemistry*, Vol. 58, pp. 307-313

CAST/Council for agricultural Science and Technology (2003), "Mycotoxins", *Risks in plant, animal and human systems*, Ames, Iowa, USA, http://www.international-food-safety.com

CAVRET, S., LECOEUR, S. (2006), "Fusariotoxin transfer in animal", *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 44, pp. 444-453

CHELI, F., PINOTTI, L., ROSSI, L., DELL'ORTO, V. (2013), "Effect of milling procedures on mycotoxin distribution in wheat fractions: A review", *LWT-Food Science and Technology*, Vol. 54, pp. 307–314.

CSEH, S., KOVÁCS, M. (2010): „Mikotoxinok reprodukcióra kifejtett hatásai”, 73-83. p., In: Kovács, M. (Szerk.): *Aktualitások a mikotoxin kutatásban*, Budapest: Agroinform Kiadó

CSERHÁTI, M. (2013), Doktori (Ph.D.) értekezés: “Mikotoxinok biodegradációjára képes mikroorganizmusok szelekciója és alkalmazása”, *Gödöllő: Környezettudományi Doktori Iskola.*

CSL/Central Science Laboratory (2005), “Understanding and preparing for climate change”, *Prospectus*, Sand Hutton, York, U.K.

DE SANTIS, B., RAGGI, E.M., MORETTI, G., FACCHIANO, F., MEZZELANI, A. et al. (2017), “Study on the Association among Mycotoxins and other Variables in Children with Autism”, *Toxins*, Vol. 9 No. (7), pp. 203; doi:10.3390/toxins9070203.

DEÁK, T., KISKÓ, G., MARÁZ, A., MOHÁCSINÉ FARKAS CS. (2006): “Élelmiszer-mikrobiológia”, TAMOP 4.2.5. Pályázat könyvei (Könyvek , Alkalmazott tudományok , Vegyipar,Élelmiszeripar),http://www.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/2011_0001_521_Elelmiszer-mikrobiologia/ch10s05.html

DRIEHUIS, F., SPANJER, M.C., SCHOLTEN, J.M., TE GIFFEL, M.C. (2008), “Occurrence of mycotoxins in feedstuffs of dairy cows and estimation of total dietary intakes”, *Journal of Dairy Science*, Vol. 91, pp. 4261–4271.

EFSA (2010), “Management of left-consored data in dietary exposure assessment of chemical substances”, *EFSA J.*, 8, pp. 1557-1653

ERBER, E., BINDER, E.M. (2004), “Managing the risk of mycotoxins in modern feed production”, 21-45. p., In: *The 5th Korea feed ingredient association international symposium*, Korea Feed Ingredient Association, Seoul, Korea

FAO (1997), “Worldwide Regulations for Mycotoxins 1995”, a compendium, *FAO Food and Nutrition Paper*, No. 64, Rome, Italy

FARKAS, J., BECZNER, J. (2009), „A klímaváltozás és a globális felmelegedés várható hatása a mikológiai élelmiszer- biztonságra”, *Klíma- 21 Füzetek*, Vol. 56, pp. 4-5

FARKAS, J., SZEITZNÉ SZABÓ, M., MOHÁCSINÉ FARKAS, CS. (2014), „Mikotoxinok álarcban- új takarmány- és élelmiszer-biztonsági kihívás?”, *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, Vol. 3, pp. 51-54

FEFAC (2015), "The compound feed industry in the EU livestock economy", http://www.fefac.eu/files/79279.pdf

FVM-NÉBIH/Földművelésügyi Minisztérium - Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (2013), "Élelmiszerlánc-biztonsági Stratégia 2013-2022", http://elbs.hu/

GALVANO, F., RITIENI, A., PIVA, G., PIETRI, A., (2005): "Mycotoxins in the human food chain", 187- 224. p., In: Diaz, D (Eds.): *The Mycotoxin Blue Book*, Nottingham Press

GLÁVITS, R., VÁNYI, A. (1995), „A sertés fontosabb mikotoxikózisai", *Magyar Állatorvosok Lapja*, Vol. 50. pp. 407-420

GROMADZKA, K., WASKIEWICZ A., CHELKOWSKI, J., GOLINSKI, P. (2008), „Zearalenone and its metabolites: occurence, detection, toxicity and guidelines", *World Mycotoxin Journal*, Vol. 1, No. 2, pp. 209-220

HIETANIEMI, V., KUMPULAINEN, J. (1991), „Contents of *Fusarium* toxins in Finnish and imported grains and feeds", *Food Additives and Contaminants*, Vol. 8, pp. 171-182

HOCKING, AD. (2003): "Microbiological facts and fictions in garin storage", 55-58. p., In: Wright, E.J., Webb, M.C., Highley, E. (Eds.): *Stored grain in Australia*, Proceedings of the Australian Postharvest Technical Conference, Canberra

HORVÁTHNÉ DRÉGELYI-KISS, Á. (2008), "*Analitikai módszerek validálása, érvényesítése*", Jegyzet *Méréselmélet* című tárgyhoz: BMF Bánki Donát Gépész és Biztonságtechnikai Mérnöki Kar

HUSSEIN, H.S., BRASEL, J.M. (2001), "Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on human and animals", *Toxicology*, Vol. 167, pp. 101–134

IHAKA, R., GENTLEMAN, R. (1996), „A language for data analysis and graphics", *Journal of Computational and Graphical Statistics*, 5(3), pp. 299-314

JECFA (2000), "Safety evaluation of certain food additives and contaminants", *WHO/Food Additives Series 44*

JOLÁNKAI, R., B.TÓTH, SZ., WÁGNER, L., HUSVÉTH, F. (2008), "Mikotoxinok az élelmiszerláncban: megjelenésük a juhtejben és a juhkefirben", *AWETH (Animal welfare, ethology and housing systems)*, Vol. 4, No. 2, pp. 769-772

KECSKÉSNÉ NAGY, E., KORZENSZKY, P., SEMBERY, P. (2016/a), "The role of color sorting machine in reducing food safety risks", *Potravinarstvo*, Vol. 10(1), pp. 354-358

KECSKÉSNÉ NAGY, E., TIMA, H., KORZENSZKY, P., SEMBERY, P. (2016/b), "Színválogatás után keletkezett malmi melléktermék DON-toxin-tartalmának vizsgálata takarmányként való felhasználás szempontjából", *Magyar Állatorvosok Lapja*, Vol. 138(7), pp. 421-430

KECSKÉSNÉ NAGY, E., SEMBERY, P. (2015), „The effect of adequate technical conditions on level of DON toxin in milling process", *Annals of Faculty of Engineering Hunedoara - International Journal of Engineering*, Vol.13(1), pp. 49-52

KISS, B., MEZEI, P.D., SZKIBA, I., SZŰCS, R., VARGA, D. (2011), *"Az elválasztástechnika korszerű módszerei"*, http://oktatas.ch.bme.hu/oktatas/konyvek/anal/MSc-Elvalasztastechnika/MSc-2011/Elvtech_bio.pdf

KOVÁCS, F. (2010/a): "Agrártermelés- Tápláléklánc- Mikotoxinok", 7-11 p. In: Kovács, M. (szerk.): *Aktualitások a mikotoxin kutatásban*, Budapest: Agroinform Kiadó

KOVÁCS, M. (2010/b): „A mikotoxinok humán-egészségügyi vonatkozásai", 86-102. p., In: Kovács, M. (Szerk.): *Aktualitások a mikotoxin kutatásban*, Budapest: Agroinform Kiadó

KRSKA, R., SCHUBERT-ULLRICH, P., MOLINELLI, A., SULYOK, M., MACDONALD, S., CREWS, C. (2008), „Mycotoxin analysis: An update". *Food Additives and Contaminants part A*, Vol. 25, No. 2, pp. 152-163

LANCOVA, K., HAJSLOVA, J., POUSTKA, J., KRPLOVA, A., ZACHARIASOVA, M., DOSTALEK, P., SACHAMBULA, L. (2008), "Transfer of *Fusarium* mycotoxins and 'masked' deoxynivalenol (deoxynivalenol-3-glucoside) from field barley through malt to beer. *Food Additives and Contaminants Part A*, Vol. 25, pp. 732–744

LÁSZLÓ, GY. (2013), "Biológiai növényvédelem Magyarországon: Engedélyezett növényvédőszerek az ökológiai és az integrált gazdaságban", *Biokultúra*, Vol. 24(2), https://www.biokontroll.hu/biologiai-noevenyvedelem-magyarorszagon/

LOGRIECO, A., MULÈ, G., MORETTI, A., BOTTALICO, A. (2002), „Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe", *European Journal of Plant Pathology* Vol. 108, pp. 597-609

MAGYAR TAKARMÁNY KÓDEX (2004), II. kötet, 12. fejezet

MARQUARDT, R.R., MADHYASTHA, S., (2015), "Mycotoxins in feed and animal products" In: *Book of Abstract, Proceedings of the 1st World Conference on Innovative Animal Nutrition and Feeding*, Budapest, Hungary, 15–17 October 2015: Akadémiai Kiadó, pp. 58–63

MATEO, J.J., MATEO, R., JIMENEZ, M. (2002), "Accumulation of type A trichotecenes in maize, wheat and rice by *Fusarium* sporotrichoides isolates under diverse culture conditions", *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 72, pp. 115-123

MESTERHÁZY, Á. (2010): "A mikotoxinok táplálékláncból való kiiktatásának lehetőségei, a rezisztencianemesítés, a fajtaelismerés, és az agrotechnika területén", 119-139. p., In: Kovács, M. (Szerk.): *Aktualitások a mikotoxin kutatásban*, Budapest: Agroinform Kiadó

MESTERHÁZY, Á. (2015), "Agrotechnikával a fuzárium megelőzésére", *Biokultúra*, Vol. 26(3), pp. 30-32

MESTERHÁZY, Á., LEHOCZKI-KRSJAK, SZ., VARGA, M., TÓTH, B., SZABÓ-HEVÉR, Á., BARTÓK, T., ÁCS, K., KÓTAI, CS. (2014): "A búza kalászvédelmének fejlesztése kalászfuzáriummal szemben", 259-265. p., In: Matuz, J., Szilágyi, L. (Szerk.): *A kilencedik évtizedben*, Szeged: Gabonakutató Közhasznú Nonprofit Kft.

MESTERHÁZY, Á., TÓTH, B., LEHOCZKI-KRSJAK, S., SZABÓ-HEVÉR, Á., CSEUZ, L., LEMMENS, M., VARGA, M., HERTELENDY, P. (2011): "Breeding wheat with resistance to FHB: concepts, methods and results", In: Gilbert, J., Tekauz, A., Sweetland, N., Slusarenko, K. (Eds.): *Proceedings of the 7th Canadian Workshop on Fusarium Head Blight*.,Winnipeg, Kanada, 122

MÉZES, M. (1997), „Takarmányártalmak, takarmány toxikológia", *Szent István Egyetem Mezőgazdaság és Környezettudományi Kar*, Takarmányozástani Tanszék, Gödöllő, pp. 1-73

MSZ EN ISO 9000:2015, "Minőségirányítási rendszerek", Alapok és szótár (ISO 9000:2015)

MULLER, H.M., SCHWADORF, K. (1993), "A survey of the natural occurrence of *Fusarium* toxins in wheat grown in a southwestern area of Germany", *Mycopathologia*, Vol. 121, pp. 115-121

NELSON, P.E., MARASAS, W.F.O., TOUSSOUN, T.A. (1983), „Toxigenic *Fusarium* species", *Identity and Mycotoxicology Book*, pp. 328

OBÁDOVICS, J. GY. (1974): "Matematika", 229-253.p., Budapest: Műszaki Könyvkiadó

OMSZ/Országos Meteorológiai Szolgálat (2017/a), "Éghajlatváltozás okai", http://www.met.hu/eghajlat/eghajlatvaltozas/eghajlatvaltozas_okai/

OMSZ/Országos Meteorológiai Szolgálat (2017/b), "Magyarország éghajlata/Elmúlt évszázad éghajlata",http://www.met.hu/eghajlat/magyarorszag_eghajlata/eghajlati_visszatekinto/elmult_evszazad_idojarasa/

OMSZ/Országos Meteorológiai Szolgálat (2005), "A Meteorológiai Világszervezet állásfoglalása az éghajlat 2004. évi állapotáról", WMO-No. 983, Hungarian Edition

PARK, J., CHANG, H., KIM, D., CHUNG, S., LEE, C. (2018), "Long-term occurrence of deoxynivalenol in feed and feed raw materials with a special focus on South Korea", *Toxins*, Vol. 10(3), pp. 2-14

PATERSON, R.R.M., LIMA, N. (2010), "How will climate change affect mycotoxins in food?", *Food Research International*, Vol. 44(7), pp.1902-1914

PATERSON, R.R.M., LIMA, N. (2011), "Further mycotoxin effects from climate change", *Food Research International*, Vol. 44, pp. 2555-2566

PERKOWSKI, J., JELEN, H., KIECANA, I., GOLINSKI, P. (1997), „Natural contamination of sprig barley with group A trichotecene mycotoxins in southeastern Poland", *Food Addititives and Contaminants part A*, Vol. 14, pp. 321-325

PERKOWSKI, J., PLATTNER, R.D., GOLINSKI, P., VESONDER, R. F. (1990), „Natural occurrence of deoxynivalenol, 3-acetyl-deoxynivalenol, 15-acetyl-deoxynivalenol, nivalenol, 4,7-dideoxynivalenol and zearalenone in Polish wheat", *Mycotoxin Research*, Vol 6, pp. 7-12

PINOTTI, L., DELL'ORTO, V. (2011), "Feed safety in the feed supply chain", *Biotechnology Agronomy Society and Environment*, Vol. 15, pp. 9–14

PINOTTI, L., OTTOBONI, M., GIROMINI, C., DELL'ORTO, V., CHELI, F. (2016), "Mycotoxin contamination in the EU feed supply chain: a focus on cereal byproducts", *Toxins*, Vol. 8, No. 2, pp. 45; doi:10.3390/toxins8020045.

PITT, J.I., WILD, C.P., BAAN, R.A., GELDERBLOM, W.A., MILLER, D.J., RILEY, R.T., FELICIA, W.U. (2012), "Improving Public Health through Mycotoxin Control", *IARC Scientific Publications*, World Health Organization: Lion, France, No. 157.

PLACINTA, C.M., D'MELLO, J.P.F., MACDONALD, A.M.C. (1999), „A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins", *Journal of Animal Feed Science and Technology*, Vol. 78, pp. 21-37

PLEADIN, J., PERSI, N., MITAK, M., ZADRAVEC, M., SOKOLOVIC, M., VULIC, A. et al. (2012/a), „The natural occurence of T-2 toxin and fumonisins in maize samples in Croatia", *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol. 88, pp. 863-866

PLEADIN, J., SOKOLOVIC, M., PERSI, N., ZADRAVEC, M., JAKI, V., VULIC, A. (2012/b), „Contamination of maize with deoxynivalenol and zearalenone in Croatia", *Journal of Food Control*, Vol. 28, pp. 94-98

PLEADIN, J., VAHCIC, N., PERSI, N., SEVELJ, D., MARKOV, K., FRECE, J. (2013), „*Fusarium* mycotoxins' occurrence in cereals harvested from Croatian fields", *Journal of Food Control*, Vol. 32, pp. 49-54

PLEADIN, J., FRECE, J., LESIC, T., ZADRAVEC, M., VAHCIC, N., STAVER, M.M., MARKOV, K. (2017), „Deoxynivalenol and zearalenone in unprocessed cereals and soybean from different cultivation in Croatia", *Food Additives and Contaminants part B,* Vol. 10, No. 4., pp. 268-274

POHLAND, A.E., THORPE, C.W., TRUCKSESS, M.W., EPPLEY, R.M. (Eds.) (1986): *Diagnosis of Mycotoxicoses*, Martinus Nijhoff, The Haguae, p. 271

RAJHONÁNÉ NAGY, A. (2013), "2013 tavaszának időjárása", *Légkör*, Vol. 58, No. 2, pp. 85-86

SERTÉSINFORMÁCIÓS RENDSZER (KSH alapján), Húsfogyasztás: https://sertesinfo.aki.gov.hu

SFORZA, S., DALL' ASTRA, C., MARCHELLI, R. (2006), "Recent advances in mycotoxin determination in food and feed by hyphenated chromatographic techniques/mass spectrometry", *Mass Spectrometry Reviews*, Vol. 25, pp. 54-76

SHIER, W.T. (1998), "Eostrogenic mycotoxins", *Revue de Médecine Vétérinaire*, Vol. 149, pp. 599-604

SMITH, T.K. (2005), „A mikotoxikózis tüneteinek felismerése és az azt kiváltó okok elleni védekezés haszonállatoknál: legújabb kutatási eredmények", *Alltech-European Lecture Tour*, Budapest

SURAI, P. F., DVORSKA, J. E., (2005): „Effects of mycotoxins on antioxidant status and immunity”, 93-138. p., In: Diaz, D. (Eds.): *The Mycotoxin Blue Book*, Nottingham Press

SZABÓ-HEVÉR, Á., VARGA, M., LEHOCZKY-KRSJAK, SZ., LANTOS, CS., PAUK, J., PURNHAUSER, L., MESTERHÁZY, Á. (2013): „Deoxinivalenol-tartalommal szembeni rezisztencia genetikai hátterének vizsgálata frontana eredetű térképező búzapopulációban”, *XIX. Növénynemesítési Tudományos Nap*, Keszthely: Pannon Egyetem Georgikon Kar

SZEITZNÉ SZABÓ, M. (2007), Doktori (Ph.D.) értekezés: “A táplálékláncba került mikotoxinok populációs szintű egészségkockázatának elemzése különös tekintettel a hazai forgalmazású paprika aflatoxin és ochratoxin tartalmára”, *Kaposvári Egyetem: Állattudományi Kar*

SZEITZNÉ SZABÓ, M. (2010): „A mikotoxinok ellenőrzésére vonatkozó jogi háttér, az EU élelmiszerekre és takarmányokra vonatkozó, gyors veszélyjelző (RASFF) rendszerébe érkező bejelentések értékelése”, 104-118. p., In: Kovács, M. (Szerk.): *Aktualitások a mikotoxin kutatásban*, Budapest: Agroinform Kiadó

UENO, Y. (1977): „Trichotecenes: Overview address”, 189-228. p., In: Rodricks, J.V., Hesseltine, C.W., Mehlmann, M. A. (Eds.): *Mycotoxins in human and animal health*, Proceedings of a Conference on mycotoxins in human and animal health, University of Maryland, Park Forest South: Pathotox Publishers

VAN EGMOND, H.P. (1996): “Mycotoxins in food: analysis, detection and legislation”, 261-269. p., In: Samson, R.A., Hoekstra, E.S., Frisvad, J.C., Filtenberg, O. (Eds): *Introduction to Food-Borne Fungi*, Centraalbureau voor Schimmelcultures

VÁNYI, A., GLÁVITS, R., MOLNÁR, T. (1995), „F-2 és T-2 toxin okozta reprodukciós zavarok nagyüzemi sertésállományokban”, *Magyar Állatorvosok Lapja*, Vol. 50, pp. 424-430

VINCZE, E. (2015), “2014 időjárása/Weather of 2014”, *Légkör*, Vol. 60 (1), pp. 56-62

VOGELGSANG, S., MUSA, T., BÄNZIGER, I., KAGI, A., D. BUCHELI, T., WETTSTEIN, E.F., PASQUALI, M., FORRER, H-R. (2017), „*Fusarium* mycotoxins in Swiss wheat: A Survey of growers’ samples between 2007 and 2014 shows strong year and minor geographic effects”, *Toxins*, Vol. 9, No. 8, pp. 2-19

WELLS, L., HARDIE, L., WILLIAMS, C., WHITE, K., LIU, Y., DE SANTIS, B. et al. (2017), „Deoxynivalenol Biomarkers in the Urine of UK Vegetarians", *Toxins*, Vol. 9, No. 7, pp. 196; doi:10.3390/toxins9070196

WILD, C.P., GONG, Y.Y. (2010), "Mycotoxins and human disease: A largely ignored global health issue", *Carcinogenesis*, Vol. 31, pp. 71–82

WMO/World Meteorological Organization (2005), "Időjárás- Éghajlat –Víz", WMO-No.983. ISBN 92-63-10983-4

WU, F. (2007), "Measuring the economic impacts of *Fusarium* toxins in animal feeds", *Animal Feed Science and Technology*, No. 137, pp. 363–374

WU, F. (2015), "Global impacts of aflatoxin in maize: Trade and human health", *Journal of World Mycotoxin*, Vol. 8, pp. 137–142

ZHANG, Y., CAUPERT, J., (2012), "Survey of mycotoxins in U.S. distiller's dried grains with solubles from 2009 to 2011", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 60, pp. 539–543

ZOU, Z., ZHIFE, H., LI, H., HAN, P., TANG, J., XI, C., LI, Y., ZHANG, L., LI, X. (2011), "Development and application of a method for the analysis of two trichothecenes: Deoxynivalenol and T-2 toxin in meat in China by HPLC–MS/MS", *Meat Science*, Vol. 90, pp. 613–617

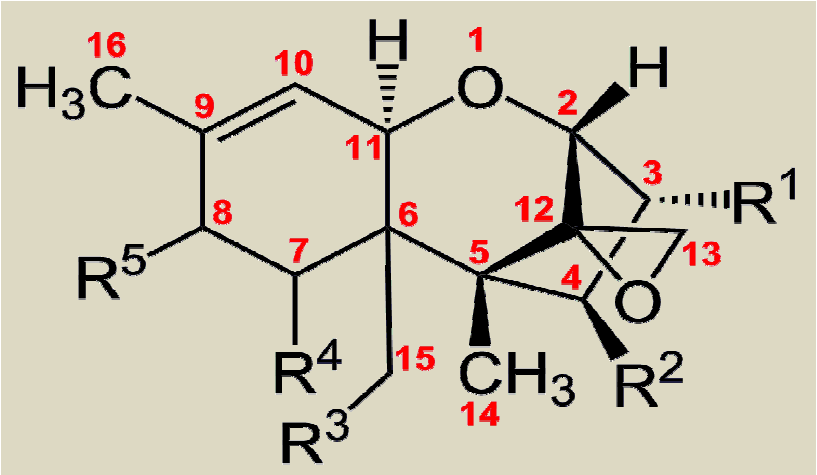
## M2. MELLÉKLETEK

**M2.1.** A sertésállomány (ezer darab/év) decemberi alakulása az Európai Unió tagországaiban a 2010–2015 közötti időszakban.

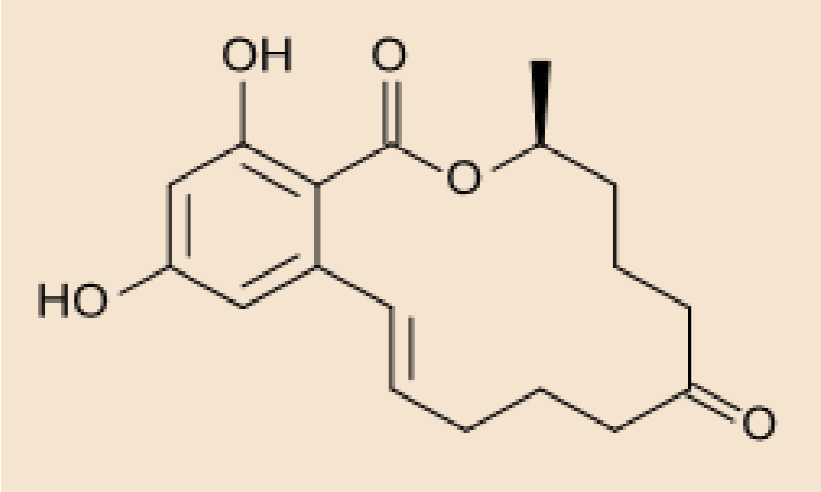
| Országok | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Belgium | 6 176 | 6 328 | 6 448 | 6 351 | 6 350 | 6 364 |
| Bulgária | 664 | 608 | 531 | 586 | 553 | 600 |
| Csehország | 1 846 | 1 487 | 1 534 | 1 548 | 1 607 | 1 555 |
| Dánia | 12 293 | 12 348 | 12 281 | 12 402 | 12 709 | 12 702 |
| Németország | 26 901 | 27 402 | 28 331 | 28 133 | 28 339 | 27 652 |
| Észtország | 372 | 366 | 375 | 359 | 358 | 305 |
| Írország | 1 500 | 1 553 | 1 493 | 1 469 | 1 506 | 1 475 |
| Görögország | 1 087 | 1 120 | 1 044 | 1 031 | 1 046 | 877 |
| Spanyolország | 25 704 | 25 635 | 25 250 | 25 495 | 26 568 | 28 367 |
| Franciaország | 14 279 | 13 967 | 13 778 | 13 428 | 13 300[a)] | 13 307[a)] |
| Horvátország | 1 231 | 1 233 | 1 182 | 1 110 | 1 156 | 1 167 |
| Olaszország | 9 321 | 9 351 | 8 662 | 8 561 | 8 676 | 8 683 |
| Ciprus | 464 | 439 | 395 | 358 | 342 | 328[a)] |
| Lettország | 390 | 375 | 355 | 368 | 349 | 334 |
| Litvánia | 929 | 790 | 808 | 755 | 714 | 688 |
| Luxemburg | 89 | 91 | 89 | 90 | 93 | 89 |
| **Magyarország** | **3 169** | **3 044** | **2 989** | **3 004** | **3 136** | **3 124** |
| Málta | 69 | 46 | 45 | 49 | 47 | 44 |
| Hollandia | 12 206 | 12 103 | 12 104 | 12 013 | 12 065 | 12 453 |
| Ausztria | 3 134 | 3 005 | 2 983 | 2 896 | 2 868 | 2 845 |
| Lengyelország | 14 776 | 13 056 | 11 132 | 10 994 | 11 266 | 10 590 |
| Portugália | 1 917 | 1 985 | 2 024 | 2 014 | 2 127 | 2 247 |
| Románia | 5 428 | 5 364 | 5 234 | 5 180 | 5 042 | 4 927 |
| Szlovénia | 396 | 347 | 296 | 288 | 281 | 271[a)] |
| Szlovákia | 687 | 580 | 631 | 637 | 642 | 633[b)] |
| Finnország | 1 340 | 1 290 | 1 271 | 1 258 | 1 223 | 1 239 |
| Svédország | 1 607 | 1 568 | 1 474 | 1 480 | 1 458 | 1 435 |
| Egyesült Királyság | 4 385 | 4 326 | 4 216 | 4 383 | 4 510 | 4 422 |
| **Európai Unió** | **152 361** | **149 809** | **146 955** | **146 242** | **148 330** | **148 724** |

Megjegyzés: decemberi adatok

Forrás: Sertésinformációs Rendszer




**M2.2.** A trichotecén mikotoxinok kémiai szerkezete




**M2.3.** Zearalenon mikotoxin kémiai szerkezete

**M2.4.** A gabonafélékre és gabonakészítményekre vonatkozó mintavételi módszer 50 tonnás, vagy nagyobb tételek esetében.

| **Árucikk** | **A tétel tömege (tonna)** | **Az altételek tömege vagy száma** | **A részminták száma** | **Az egyesített minta tömege** |
|---|---|---|---|---|
| Gabonafélék és gabonakészítmények | > 300 és < 1 500 | 3 altétel | 100 | 10 |
| | ≥ 50 és ≤ 300 | 100 tonna | 100 | 10 |
| | < 50 | — | 3-100 | 1-10 |

**M2.5.** A gabonafélékre és gabonakészítményekre vonatkozó mintavételi módszer 50 tonnánál kisebb tételek esetében.

| **A tétel tömege (tonna)** | **A részminták száma** | **Az egyesített minta tömege (kg)** |
|---|---|---|
| **≤ 0,05** | **3** | **1** |
| > 0,05–≤ 0,5 | 5 | 1 |
| > 0,5–≤ 1 | 10 | 1 |
| > 1–≤ 3 | 20 | 2 |
| > 3–≤ 10 | 40 | 4 |
| > 10–≤ 20 | 60 | 6 |
| > 20–≤ 50 | 100 | 10 |

**M2.6.** Az 519/2014/EU rendelet, amely az 50 tonnánál nagyobb tételek mintavételezési eljárását módosította.

*„A **> 500 tonnás tételek esetén** az elemi minták számára vonatkozó előírást az I. melléklet L.2. része tartalmazza.”*

*“L.2. Az elemi minták szükséges száma nagyon nagyméretű tételek esetén*

*A nagyméretű mintavételi tételek (> 500 tonna) esetében **az elemi minták szükséges száma = 100 elemi minta + √tonna**. Amennyiben azonban a tétel tömege 1500 tonnánál kevesebb, és altételekre osztható a B. rész 1. táblázatának megfelelően, valamint amennyiben az altétel fizikailag elkülöníthető, a B. részben előírt számú elemi mintát kell venni.”*

**M2.7.** Az állattenyésztésben használt takarmánykeverékeknek az egyes állatfajokra vonatkozó ajánlati mikotoxin koncentrációja (mg/kg) a Magyar Takarmány Kódex (2004) II. kötet, 12. fejezet szerint.

| **Toxin/takarmánykeverék állatfajonként** | **Depresszív koncentrációs érték** | **Toxikus koncentrációs érték** |
|---|---|---|
| **Zearalenon toxin** | | |
| Ló | - | - |
| Szarvasmarha | 0,15 | 0,30 |
| Tejelő tehén és üsző | - | - |
| Húsmarha | - | - |
| Borjú | 0,25 | - |
| **Tenyészsertés** | **0,15** | **0,25** |
| **Tenyészsüldő** | **0,05** | - |
| **Süldő és hízósertés** | **0,2** | **0,4** |
| Brojler baromfi | 0,5 | - |
| Tenyésztojó tyúk | 0,5 | - |
| Tenyésztojó lúd, kacsa pulyka | 0,2 | - |
| Egyéb takarmánykeverék | 0,5 | 1,0 |
| **T-2 toxin** | | |
| Ló | - | - |
| Szarvasmarha | 1,0 | 2,0 |
| **Sertés** | **0,25** | **0,60** |
| Brojler baromfi | 0,3 | 0,60 |
| Tenyésztojó tyúk, pulyka, vízi szárnyas | 0,25 | 0,80 |
| Egyéb takarmánykeverék | 1,0 | 2,0 |
| **Deoxinivalenol (DON) toxin** | | |
| Szarvasmarha | 5,0 | - |
| Borjú | 0,20 | - |
| **Sertés** | **0,4** | **1,0** |
| Tyúkfélék tojó és brojler | 2,0 | - |
| Lúd, kacsa és pulyka | 0,5 | - |
| **Trichotecének** | | |
| Szarvasmarha | 2,0 | 4,0 |
| Sertés | 0,5 | 1,2 |
| Brojler | 0,6 | 1,2 |
| Tojótyúk, pulyka, vízi szárnyas | 0,3 | 1,6 |
| Egyéb takarmánykeverék | 2,0 | 4,0 |
| **Fumonizin B1** | | |
| Ló | 5,0 | - |
| Szarvasmarha | 50,0 | - |
| Sertés | 5,0 | 10,0 |
| Baromfi | 30,0 | - |
| Egyéb takarmánykeverék | 30,0 | |
| **Ochratoxin A** | | |
| Sertés, baromfi | 0,2 | - |
| Egyéb takarmánykeverék | 0,2 | - |

**M2.8.**Kutatási témakörhöz kapcsolodó publikációim:

**Hatástényezővel (IF) rendelkező angol nyelvű folyóiratcikkek**

**Helga Tima**, Adrienn Berkics, Zoltán Hannig, András Ittzés, Eleonóra Kecskésné Nagy, Csilla Mohácsi-Farkas, Gabriella Kiskó
*Deoxynivalenol in wheat, maize, wheat flour and pasta: surveys in Hungary in 2008-2015*
***FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS PART B - SURVEILLANCE 11:*****(1)** pp. 37-42. (2018) (2017: **IF=2,402**)

**Helga Tima**, Andrea Brückner, Csilla Mohácsi-Farkas, Gabriella Kiskó
*Fusarium mycotoxins in cereals harvested from Hungarian fields*
***FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS PART B - SURVEILLANCE 9:***(2) pp. 127-131. (2016) (**IF=1,723**)

**Helga Tima**, Anita Rácz, Zsuzsanna Guld, Csilla Mohácsi-Farkas, Gabriella Kiskó,
*Deoxynivalenol, zearalenone and T-2 in grain based swine feed in Hungary*
***FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS PART B - SURVEILLANCE 9:***(4) pp. 275-280. (2016) (**IF=1,723)**

**Hatástényezővel (IF) rendelkező magyar nyelvű folyóiratcikkek (angol nyelvű összefoglalóval)**

E Kecskésné Nagy, Helga Tima, P Korzenszky, P Sembery
*Színválogatás után keletkezett malmi melléktermék DON-toxin-tartalmának vizsgálata takarmányként való felhasználás szempontjából*
***MAGYAR ÁLLATORVOSOK LAPJA*** **138:**(7) pp. 421-430. (2016) (**IF=0,212**)

**Magyar és angol nyelvű folyóiratcikkek**

**Tima Helga**, Kecskésné Nagy Eleonóra, Rácz Anita, Kiskó Gabriella, Mohácsiné Farkas Csilla
*Takarmányozásra használt növényi alapanyagok DON, F-2, T-2 mikotoxin vizsgálata ELISA-módszerrel/DON, F-2 and T-2 mycotoxin assay of plant-based feedstock raw materials using the ELISA method*
***ÉLELMISZERVIZSGÁLATI KÖZLEMÉNYEK*** **63:**(2) pp. 1548-1563. (2017)

**Magyar nyelvű folyóiratcikkek**

Tima Helga, Radványi Dalma
*Penészes romlások kimutatásának lehetőségei*
***ŐSTERMELŐ: GAZDÁLKODÓK LAPJA*** **2015:**(4) pp. 39-41. (2015)

Szabóné Tima Helga
*Penészesedés és mikotoxin termelés hatása a gabonafélékre*
***ŐSTERMELŐ: GAZDÁLKODÓK LAPJA*** **1:** pp. 52-53. (2014)

Szabóné Tima Helga
*Klímaváltozás hatása a penészgombákra és a mikotoxin termelésre*
***ŐSTERMELŐ: GAZDÁLKODÓK LAPJA* 3:** pp. 32-33. (2014)

Szabóné Tima Helga
*DON, F-2, T-2 mikotoxinok megjelenésének kockázata az élelmiszerláncban*
***ŐSTERMELŐ: GAZDÁLKODÓK LAPJA* 6:** pp. 119-120. (2014)

Szabóné Tima Helga
*Sertések mikotoxin érzékenysége*
***ŐSTERMELŐ: GAZDÁLKODÓK LAPJA* 5:** pp. 110-111. (2013)

Szabóné Tima Helga
*Mikotoxinok élelmiszerbiztonsági kockázata*
***ŐSTERMELŐ: GAZDÁLKODÓK LAPJA* 6:** pp. 134-135. (2013)

Szabóné Tima Helga
*Baromfiak mikotoxin érzékenysége*
***GALAMB ÉS KISÁLLAT MAGAZIN* 27:**(11) pp. 10-11. (2013)

**Angol nyelvű konferencia közlemény**

Tima Helga, Rácz Anita, Mohácsi-Farkas Csilla, Kiskó Gabriella
*Exploration of DON, F-2, T-2 contamination of vegetal raw materials used for feeding, analysis of their food safety risks*
In: Ács Kamilla, Bencze Noémi, Bódog Ferenc, Haffner Tamás, Hegyi Dávid, Horváth Orsolya Melinda, Hüber Gabriella Margit, Kis Kelemen Bence, Lajkó Adrienn, Mátyás Mónika, Szendi Anna, Szilágyi Tamás Gábor (szerk.)
V. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia Konferenciakötet: **5th Interdisciplinary Doctoral Conference Book** 514 p.

Konferencia helye, ideje: Pécs, Magyarország, 2016.05.27-2016.05.29.

(ISBN:978-963-429-039-1)

Tima Helga, Taczmanné Brückner Andrea, Mohácsi-Farkas Csilla, Kiskó Gabriella
*The occurance of Fusarium mycotoxins in case of cereals harvested from two regions of Hungary*
In: Engelhardt Tekla, Dalmadi István, Baranyai László, Mohácsi-Farkas Csilla (szerk.)
**Food Science Conference 2015** - Integration of science in food chain: **Book of proceedings**.

Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2015.11.18-2015.11.19.

Budapest: Corvinus University of Budapest, 2015. pp. 253-255.

(ISBN:978-963-503-603-5)

**Angol nyelvű konferencia összefoglaló**

Tima Helga, Rácz Anita, Guld Zsuzsanna, Mohácsiné Farkas Csilla, Kiskó Gabriella
*Food safety risk of Deoxynivalenol, Zearalenone, T-2 Mycotoxins in swine feed from three manufacturers in Hungary*
In: K. Márialigeti, O. Dobay (szerk.)
**17 th International Congress of the Hungarian Society for Microbiology**. 241 p.
Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2015.07.08-2015.07.10.
Budapest: Akadémiai Kiadó, pp. 228-229.

**Magyar nyelvű konferencia összefoglaló**

Szabóné Tima Helga
*Deoxinivalenol, zearalenon, és T-2 mikotoxinok szennyezettségi összefüggésének vizsgálata sertés tápokban*
In: Szabó István, Bohonyi Noémi, Haffner Tamás, Horváth Orsolya, Márhoffer Nikolett, Molnár Emese, Pál Eszter, Schaub Anita, Varga Zoltán (szerk.)
IV. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia 2015: **4th Interdisciplinary Doctoral Conference** 2015. 570 p.
Konferencia helye, ideje: Pécs, Magyarország, 2015.05.14-2015.05.15. (Pécsi Tudományegyetem Doktorandusz Önkormányzat)
Pécs: Pécsi Tudományegyetem Doktorandusz Önkormányzat, 2015. p. 25.
(ISBN:978-963-642-830-3)

Tima Helga, Berkics Adrienn, Hannig Zoltán, Ittzés András, Kecskésné Nagy Eleonóra, Mohácsi-Farkas Csilla, Kiskó Gabriella
*Deoxinivalenol mikotoxin szennyezettség elemzése búzában, kukoricában, búzalisztben és száraztésztában: felmérés Magyarországon, 2008-2015 között.*
In: **Akadémiai beszámolók: Élelmiszer-higiénia: Állategészségügyi igazgatás**. 13 p. Konferencia helye, ideje: Budapest, Magyarország, 2018.01.22-2018.01.25. Budapest: MTA Állatorvos-tudományi Kutatóintézet, p. 9.44.

Tima Helga
Konferencia címe: **Adatelemzés és Élelmiszerbiztonság**: Előadás címe: *Mikotoxin adatelemzésben rejlő lehetőségek.*
Konferencia helye: Budapest, Könyves Kálmán krt. 12-14,
ideje: 2018.03.01.

# 9. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Hálás köszönettel tartozom témavezetőimnek Mohácsiné Dr. Farkas Csillának és Dr. Kiskó Gabriellának mindenekelőtt azért, hogy diákjuk lehettem és azért a szakmai segítségért, belém vetett bizalomért, ami nélkül ez a doktori értkezés nem készülhetett volna el.

Hálás szívvel gondolok és köszönettel tartozom Dr. Farkas József Akadémikus Professzor Úr emlékének, aki bölcs és hasznos tanácsaival iránymutatást adott a kutatásomhoz.

Köszönettel tartozom Dr. Fodor Péter Professzor Úrnak a munkám során nyújtott sok segítségért.

Külön köszönettel tartozom műhelyvitám opponenseinek Dr. Szeitzné dr. Szabó Mária és Nádaskiné dr. Szakmár Katalin Professzor Asszonyoknak, akik építő jellegű, hasznos tanácsokkal, útmutatásokkal láttak el, felhívva a figyelmet dolgozatom fejlesztendő területeire.

Szeretném megköszönni a családom összes tagjának, hogy támogattak, bátorítottak döntéseimben a doktorandusz éveim alatt is.

*„Amit a cél elérésével kapunk, közel sem olyan fontos, mint amivé válunk, amíg azt elérjük.”*

*Zig Ziglar*