

A mikotoxin analitika jelenlegi helyzete és fejlődési irányai

Lásztity Radomir

Budapesti Műszaki Egyetem, Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszék

Érkezett: 1996. január 15.

Bár a mikotoxinokat termelő penészek okozta emberi állati megbetegedések már évszázadok óta ismertek, ezek tudományos alaposágú és részletes felderítése az utóbbi évtizedek kutatásainak eredménye. Állattenyésztők, állatorvosok, mikrobiológusok, biológusok, biokémikusok, vegyészek munkája nyomán ma már pontosabb képünk van a mikotoxikózisok tüneteiről, fiziológiai, gazdasági hatásairól a mikotoxinokat termelő mikroorganizmusokról, a mikotoxin képződés biokémiájáról, a mikotoxinok minőségi és mennyiségi meghatározásának módszereiről.

A mikotoxin kutatások zöme ugyan a takarmányvizsgálatokhoz és az állattenyésztéshez kötődik, bár egy sor kérdés még nem tisztázott, kétségtelen, hogy élelmiszeripari, humán-egészségügyi jelentőségét sem lehet figyelmen kívül hagyni. Utóbbi többek között szükségessé teszi megfelelő előírások megtételét a mikotoxinok még megengedhető határértékével és ennek meghatározására, illetve kimutatására alkalmas ellenőrző, analitikai módszerekkel kapcsolatban. Előbbivel kapcsolatos az a tény, hogy a kutatások jelentékeny részét képezik azok a munkák, amelyek a mikotoxin analitika fejlesztését célozzák.

Általános megfontolások

Az élelmiszer-egészségügyi előírások állandó szigorodása egyre érzékenyebb módszereket igényel az egyre kisebb megengedett határértékek miatt. Az élelmiszeranalitika egészében véve sikeresen birkózott meg az előbbieken vázolt kihívásokkal. Így ma már nem ritka a nanogram, pikogram sőt femtogram mennyiségű komponensek meghatározása. Ugyanakkor egyre világosabb lesz minden élelmiszeranalitikus számára, hogy a kimutatási határ csökkentése együtt jár a meghatározás pontosságának a romlásával. Hasonló helyzetbe jutunk, mint amit a fizikában Heisenberg fejtett ki és az élelmiszeranalitika számára Schuller és Stephany fogalmazott meg [1]. Az egyre kisebb és kisebb koncentráció mérése egyre romló pontossággal, megbízhatósággal párosul.

Az előzőekben vázolt problémák mellett az ilyen kis mennyiségek vizsgálatánál nagyon megnövekszik a megfelelő mintavétel szerepe. A kontaminánsok az élelmiszerekben nagyon ritkán vannak egyenletesen eloszolva. Így a legnagyobb statisztikus hiba az egyes tételek élelmiszer-egészségügyi megítélésében éppen a mintavételből származhat. Erre vezethetők vissza azok az erőfeszítések, hogy matematikai-statisztikailag jól megalapozott mintavételi tervek kerüljenek alkalmazásra. Több nemzetközi szervezet, elsősorban a FAO/WHO Codex Alimentarius Commission dolgozott ki ajánlásokat ilyen célra. Végső soron ezekben arra törekednek, hogy - még elviselhető költség mellett - elfogadható statisztikai biztonságot nyújtsanak az élelmiszerfogyasztóknak, mivel az abszolút biztonsághoz egy-egy tétel minden egyedét meg kellene vizsgálni. Így minden mintavételi terv bizonyos kockázattal jár arra nézve, hogy hibás tételt jónak fogadjanak el (a fogyasztó kockázata), illetve megfelelő tételt hibásnak minősítsenek (a gyártó kockázata). Az egyes mintavételi terveket jelleggörbével (operating characteristic curve-OC curve) szokták jellemezni, amely a tétel megfelelő minősítésének valószínűségét ábrázolja a megengedett határérték környezetében.

A mintavételt követő mintaelőkészítés fő problémája az a meghatározni kívánt komponens izolálásának, koncentrálásának és tisztításának megoldása oly módon, amely biztosítja, hogy az adott vegyület teljes mennyiségét meghatározhassuk. Sajnos - különösen a szerves vegyületek esetében - mindig előfordulnak veszteségek a minta-előkészítés során. Így a megbízható mennyiségi meghatározás egyik feltétele a kinyerési százalék pontos ismerete. Előbbi meghatározása érdekében az a szokásos eljárási mód, hogy a meghatározandó vegyület ismert mennyiségét adagolják a mintához és ennek visszanyerési százalékát állapítják meg. Az eljárásnál feltételezzük, hogy a mintában eredetileg jelenlévő vegyületet ugyanolyan arányban nyerhetjük ki, mint a hozzáadott mennyiséget. Ezt a feltételezést csak bizonyos fenntartással fogadhatjuk el. A biológiai eredetű vegyület matrixban lehet jelen, sokszor intracellulárisan, ami eltérő viselkedést eredményezhet a hozzáadott standard oldattal szemben.

Az analitikai gyakorlatban általában az alkalmazott módszert akkor tekintik megbízhatónak, ha a következő feltételek teljesülnek:

- a módszer jól reprodukálható,
- a visszanyerési százalék magas, megközelíti a 100 %-ot,
- A visszanyerési százalék széles tartományban azonos,
- a visszanyerés mértéke változik a standard oldat hozzáadása után eltelt idővel.

Az előzőekben vázolt problémák miatt a mikrogram/kg koncentráció tartományban nem ritkák a 30-40 %-os szórások sem.

A mikotoxin analitika módszerei

Mintaelőkészítés

A mikotoxinok kivonásának leggyakoribb módja az oldószerek alkalmazásán alapul. Az oldószer minőségét elsősorban a mikotoxin és a mátrix jellegre határozza meg. Az egyes toxinok polaritása jelentősen eltérő lehet. Így például az igen gyakori Fusarium toxinok közül jelentős polaritású a nivalenol és a moniliformin, míg inkább apoláros jellegű a zearalenon. A használt oldószerek skálája széles, metanol, kloroform, acetón, diklór-metán, acetonitril, etilacetát, hexán valamint ezek vizes elegyei egyaránt előfordulnak [1, 2]. A törzsoldatok készítéséhez ajánlott oldószerekről és koncentrációkról az 1. táblázat ad áttekintést. Meg kell azonban jegyezni, hogy a optimális oldószerekkel, illetve azok kombinációival kapcsolatban az egyes kutatók véleménye nem teljesen egyező. Így például Mayer és társai [3] az acetón-víz elegyet kedvezőbbnek tartják az aflatoxinok kivonására, mint egyes más oldószerkombinációkat.

1. táblázat: A törzsoldatok készítéséhez ajánlott oldószerek és koncentrációk [2]

Mikotoxin	Oldószer	Koncentráció µg/cm ³
aflatoxinok	benzol-acetonitril 98+2	8-10
citrinin	kloroform	100
deoxinivalenol	acetón-metanol 2+1	300
diacetoxiszcirpenol	kloroform	500
ochratoxin A	benzol	40
patulin	kloroform	10
rubratoxin B	acetonitril	1000
szterigmatocisztin	benzol	10
T2-toxin	kloroform	500
zearalenon	benzol	100

Újabb keletű a gyorsított oldószeres extrakció (accelerated solvent extractio-ASE) alkalmazása. Ilyen esetben nagyobb nyomás (max. 12-20 at.) és magasabb hőmérséklet mellett végzik. Az eljárás előnye a kis oldószer fogyasztás (10 g-os minta 15-30 ml oldószerral extrahálható) és a rövidebb időszükséglet (10-15 perc).

Az oldószeres extrakcióval kapott oldat legtöbbször tisztításra (clean-up) és koncentrálásra szorul. A rutinvizsgálathoz ma is elterjedten használatos vékonyrétegekromatográfiás (TLC) eljárások esetében megfelelő lehet az egyszerű folyadék-folyadék megoszlásos tisztítás. Azonban sokszor a kellő hatékonyság hiánya mellett az egyes esetekben előforduló emulzióképződés is problémát okozhat [4]. Elkerülése gyakran okozhat nehézségeket, bár egyes esetekben például aflatoxin meghatározásnál NaCl oldat adagolásával megakadályozható [5]. A fáziszétválást centrifugálással meg lehet gyorsítani, ami viszont elősegítheti ezen eljárás alkalmazását.

Egyes újabb közlemények [6, 7] arra utalnak, hogy centrifugálással kombinált folyadék-folyadék megoszlási eljárással is olyan jó tisztítás érhető el, amelyik kromatográfiás meghatározásnál is alkalmazható.

Az oszlopkromatográfiás tisztítás elsősorban szilikagél és florisil felhasználásával jelenleg is a leggyakoribb. Ezek szerepelnek a legtöbb, a három legfontosabb mikotoxincsoport (aflatoxinok, fuzariotoxinok, ochratoxinok) meghatározására szolgáló hivatalos módszerekben. Egyes esetekben keverék adszorbenseket is alkalmaznak (pl. trichotecén toxinok esetében szén és alumínium-oxid kombinációt, esetleg műgyantával kiegészítve) [8,9].

A szilárd fázisú extrakciós (solid phase extraction-SPE) eljárás az újabb irányzatok közé tartozik. Előnyük elsősorban a kis oldószer felhasználás és a kedvező visszanyerési arány. Elsősorban a normál és reverz fázisú (C8, C18) és ciano (CN) oszlopok használata terjedt el. Segítségükkel az oldószerigény sokszor a harmincadára csökkenthető és az egész tisztítási procedura lerövidíthető [4]. Bizonyos esetekben azonban több oszlop használata is szükséges, ami drágítja az eljárást [10].

Az SPE alkalmazásának példaként említem meg a tej aflatoxin M1 tartalmának vizsgálatát [4]. A hígított tejet (vagy feloldott tejport) Sep Pack C18 oszlopon engedik át, a toxint acetonitril-víz eleggyel eluálják. Az eluátumból diklór-metánnal vonják ki az aflatoxin M1-et. A diklór-metános oldatot Sep Pack Silica oszlopra viszik fel és dietiléterrel eluálják a toxint. Ez az eljárás a korábbi AOAC módszerrel szemben harmincadannyi oldószert igényel és a tisztítási eljárás a korábbi fél nappal szemben 30 percre rövidül.

A gélpermeációs módszerek (gel permeation clean-up-GPC) jól automatizálhatók. Többek között zearalenon és ochratoxin esetében kerültek alkalmazásra [6, 11].

Az utóbbi időszak egyik legjelentősebb fejleménye az immuntechnika egyre bővülő alkalmazása az élelmiszeranalitikában és így a mikotoxinanalízisben is. Magában a tisztítási folyamatban előnyös a monoklonális antitestek használata, mivel nagy feleslegben kell azokat alkalmazni a kívánt vegyület teljes mértékű és gyors megkötése érdekében. A monoklonális antitestek Kohler és Milstein [12] felfedezése nyomán ma már nagy mennyiségben állíthatók elő. Az immuntechnika alapvető előnye abban rejlik, hogy a specifikus antitestek még bonyolult keverékből is nagy szelektivitással és affinitással tudják a meghatározandó molekulákat megkötni. Így az egész meghatározási folyamat lerövidíthető és megbízhatóbbá tehető. Magukat az antitesteket lehet direkt meghatározásokhoz felhasználni, de alkalmazhatók a tisztítási folyamatban is. Utóbbi esetben az antitestet immobilizálni kell valamilyen hordozón, hogy a célmolekulák megkötése után az egyéb komponenseket el lehessen távolítani, majd végül az antitest-célmolekula komplexet megbontva a célmolekulát meghatározni. Főleg a kutatásban nyílik lehetőség ezzel a technikával molekulák azonosítására is.

Az immunoaffinitáson alapuló clean-up procedura egyik legismertebb példája az aflatoxinok meghatározásával kapcsolatos [13, 14, 15]. A sepharózon kötött antiaflatoxin antitesteket tartalmazó oszlopon engedik át a tisztítandó oldatot. A megkötött aflatoxint eluálva azt vagy természetes fluoreszcenciája alapján florisilhez kötve vagy HPLC- és technikával határozzák meg mennyiségileg. Mindkét eljárás megbízhatóságát ellenőrizték [16]. Ami az érzékenységet illeti, Mortimer és társai [17] tejmintákból 20 pg/l koncentrációt is ki tudtak mutatni ilyen eljárással. A rögzített antitestet tartalmazó oszlopok előnye a regenerálhatóság, hátrányuk a hosszú átmosási, eluálási idő. Immunoaffin oszlopokat egy sor vegyületre dolgoztak ki, többek között ochratoxin-A-ra is [18].

A hosszú átfolyási idők elkerülése érdekében dolgozták ki az antitestek membránhoz kötését. Többek között Pestka és mtsai [19] írnak le egy eljárást, amelyben monoklonális antitestek nitrocellulóz membránon vannak rögzítve.

Ami e területen a jövő lehetőségeit illeti, azok kétirányúak. Egyrészt lehetséges az antitestek minőségének és természetének változtatása, másrészt az alkalmazás technikája is fejleszthető. A rekombináns antitestek alkalmazása szélesítheti a csoport meghatározásra alkalmas immunanalitikai módszerek tárát, továbbá lehetőség nyílik nem vizes oldatokból is a célmolekulák megkötésére.

Mennyiségi és minőségi meghatározás

A mikotoxin analitika kezdeti fázisában domináló TLC módszerek (normál és reverz fázisúak egyaránt) máig megtartották jelentőségüket. Ezt mutatja a megjelenő közlemények nagy száma és az a tény, hogy a hazai és nemzetközi szabványok is sokszor ilyen eljárásokat ajánlanak [2, 5, 20, 21]. Ez jellemző a hazai publikációkra is [2, 83, 84, 85]. A módszer elterjedtségét viszonylagos egyszerűsége, illetve olcsósága és kielégítő specifikussága indokolja. Megfelelőek a fluoreszcencia sávjások, illetve színreakció esetén a mennyiségi meghatározás is jól megoldott. Megjelent a nagyhatékonyságú HPTLC technika is a mikotoxin analízisben [29]. Bár egyes szerzők [4] ajánlják a kétdimenziós TLC nem terjedt el a gyakorlatban.

A gázkromatográfia az 1980-as években kezdett egyre nagyobb szerephez jutni a mikotoxin analitikában. Különösen a trichotecén toxinok gázkromatográfiás meghatározásának van széleskörű irodalma [1, 22, 23, 24, 25, 26, 86]. A meghatározás származékképzés révén valósul meg, elsősorban szililezéssel vagy acilezéssel. Lehetséges az észterek lúgos hidrolízise és alkohollá alakítása, majd trifluor-ecetsav-anhidriddel származékok képzése és azok kromatografálása [27]. Detektálásra elektronbefogásos detektor vagy tömegspektrométer szolgál. Az AOAC hivatalos módszere elektronbefogásos detektorral és heptafluoro-borát származékkal dolgozik [28].

Napjainkra a töltött oszlopos technikát jelentős részben felváltotta a kapilláris gázkromatográfia, elsősorban a fokozatosan szigorodó előírások miatt, amelyek igen kicsiny koncentrációk kimutatását igényelték. Egy sor mikotoxin meghatározásra szolgáló módszert írtak le, beleértve a toxinok fiziológiai hatásával, metabolizmusával kapcsolatos vizsgálatokat, amelyek során egyes metabolitok is meghatározásra kerültek [30-39].

A nagyműszeres analitikai eljárások közül a gázkromatográfia (és kombinációi) mellett nagyhatékonyságú (intenzív) folyadékkromatográfia (HPLC) jutott a legnagyobb szerephez a mikotoxin vizsgálatban [40-48, 62]. Különösen akkor előnyös a használata, ha az adott mikotoxin közvetlenül detektálható UV detektorral vagy jól hasznosítható fluoreszcenciával rendelkezik. Ezért nem véletlen, hogy az első között az aflatoxinok vizsgálatánál kezdték alkalmazni [41]. A zearalenon és származékai szintén meghatározhatók ilyen technikával. A deoxinivalenol, illetve nivalenol mérésére fordított fázisú (C8, C18) oszlopot, metanol-víz vagy acetonitril-víz elegyeket használnak

izokratikus vagy gradiens módszerrel. A detektálás UV-detektorral végezhető [42]. A redukív elektrokémiai detektálás irodalmi források szerint nagyobb érzékenységgű [43]. Egyes közlemények szerint [44] a T-2, illetve HT-2 is meghatározható UV-detektorral 200 nm-en, Scott [45] azonban nem találta a módszert megfelelőnek gabonavizsgálatok során. Az ochratoxinra fluoreszcenciás detektálásos HPLC és reverz fázisú HPLC (RP-HPLC) módszerek ismeretesek [46-48].

A detektálással kapcsolatos nehézségek miatt fokozódó figyelem fordul a jól detektálható származékok képzésére akár az oszlopra vitel előtt (pre-column derivatization) [49-51], akár az oszlopos elválasztás után [52]. Így például mind az A- mind a B-csoportba tartozó trihotecének p-nitro-benzoátjai jól detektálhatók UV-fényben 254 nm-en [53, 54] vagy a difenil-indenon-szulfonil-észterek 278 nm-en [55]. Oszlop előtti (pre-column) derivatizáció antracén-9-karbonil-kloriddal nagyérzékenységgű (kb. 100 femtomol) detektálást tesz lehetővé deoxinivalenol és T-2 toxin esetében [56] fluoreszcens detektálással. Post-column derivatizációs módszer ismert a B-típusú tichotecének HPLC- és meghatározására is [57]. Kombinálható a HPLC tömegspektrometriával is [58, 59].

Alkalmaztak post-column derivatizációt aflatoxinra is [60]. Az egyéb mikotoxinok közül megemlíthető a nyolcvanas évek végén először kimutatott fumonisin, amelynek meghatározása leggyakrabban az ugyancsak nagyérzékenységgű HPLC-vel oldható meg [63, 64] orto-ftálaldehides derivatizáció és fluoreszcens detektálás után.

A mikotoxin analitika legújabb és nagy perspektivákat ígérő irányzat az immunkémiai technika felhasználása [66]. A specifikus antitestek használata - mint az a mintaelőkészítés során alkalmazott tisztítási eljárásokkal kapcsolatban röviden már említve - lehetővé teszi a rendkívül szelektív elválasztást és ezt követően az igen érzékeny és megbízható mennyiségi meghatározást. Az ilyen típusú módszerek gyors terjedését jól bizonyítja, hogy a gyakran alkalmazott ELISA technika (enzyme-linked immunosorbent assay) kivételezéséhez már egy sor kit készült és került kereskedelmi forgalomba különböző külföldi cégek és hazai gyártók révén [65].

ELISA módszerrel történő aflatoxin, ochratoxin, deoxinivalenol meghatározásokról számolt be többek között Mayer és társai [67] vizsgálva egyes kitek használhatóságát. A gabonamintákat aprítás után aceton-víz (70-30) eleggyel extrahálták, majd az extraktot telített NaCl-oldattal és diklór-metánnal kezelték. Centrifugálás után a szerves fázisokat egyesítve mérőedényben feltöltötték diklór-metánnal (25 ml-es

edény). A meghatározásokhoz 5 ml mennyiséget pároltak be szárazra. Szerves oldószerekkel (metanol, diklór-metán, acetón) történő újraoldás majd a vizes pufferoldatos kezelés után végezhető el kitek segítségével a mennyiségi meghatározás. Egészsében véve a módszereket jól alkalmazhatóknak találták. Az aflatoxin és az ochratoxin-A esetében nem megfelelő visszanyerési arányokat találtak. Ezért javasolják, hogy ilyen kitek felhasználása esetén megfelelő matrixokkal kalibrálást végezzenek. Ochratoxin esetében túl magas (120-130 %) visszanyerési arányok adódtak vélhetően keresztreakciók és aspecifikus inhibíció következtében.

A minél gyorsabb analízis és a kontaminációra vonatkozó információ olyan időben történő beszerzés, amikor még megfelelő intézkedéseket lehet hozni a további kontamináció elkerülésére vagy a kontaminált termék forgalombahozatalának megakadályozására, ösztönzi az ún. *real time* módszerek kialakítását [69]. Ilyen gyors és viszonylag egyszerű módszer a membránhoz kötött specifikus antitestek használata. Ezeknél a teszteknel nylon membránhoz vannak kovalensen kötve az antitestek és úgy aktiválva, hogy a folyékony mintából közvetlenül kötik meg a célmolekulákat. A stacionér EIA (enzyme immunofiltration assay) technika mellett használatos a dinamikus ELIFA (enzyme-linked immunofiltration assay) eljárás is. Egy sor tesztet dolgoztak ki különböző mikotoxinokra, mint az aflatoxin B1, zearalenon, fumonisin B1 [70], trichotecének, aflatoxinok, ochratoxin-A, [71], 15-acetil-deoxinivalenol [72], T-2 toxin [69]. Előnye lehet az immunkémiai eljárásoknak, hogy lehetővé tehetik több komponens egyidejű meghatározását is (computer-assisted multianalyte system-CAMAS) [71, 73].

Radio-immune assay (RIA) eljárások is ismeretesek. Így például ¹⁴C-jelzett ochratoxin alkalmazását írják le [4]. A vegyületet izokumarin és jelzett béta-alanin kapcsolásával állítják elő [74].

Végül a lehetséges módszerek közül meg kell említeni a bioteszteket is. Ezek klasszikus formáját képezik a csirke embrió teszt és trichotecénekre a nyúl (egér) bőrszövet teszt [75], továbbá az újabban vizsgált mikotoxinok okozta fiziológiai változások követése [76, 77]. Előbbiek viszonylagosan magas ára és körülményessége fordította a figyelmet a sóféreg (*Artemia salina*), illetve a *Tetrahymena pyriformis* felé, amelyek toxinérzékenysége a biológiai tesztek alapját képezi [78-82]. Különösen a sóféreg tesztet használják elég széleskörűen mind külföldön, mind Magyarországon is.

IRODALOM

1. Scott, P. M.: J. of AOAC, **65.**, 876, 1982.
2. Sándor G.; Batá Á.; Draskovocs I.: Mikotoxinok kémiai vizsgálata, in: Téren J. et al, szerk., MÉTE Kiadó, Budapest, 1990., pp. 267-344.
3. Mayer, W.; Schwaiger, I.; Hörtner, H.: ELISA determination of four mycotoxins in cereals, in: Proc. EURO FOOD CHEM. VIII. Vol. 2., Sonntag, G.; Pfannhauser, W., Eds., Vienna, 1995., pp. 242-244.
4. Bijl, J.; Rousseau, D.; Van Peteghem, C.: Recent developments in analytical methodology of mycotoxins, in: Proc. EURO FOOD CHEM. III. Baltes, W. et al Eds., Antwerp, 1985. Vol. 1. Pp. 141-146.
5. Williams, S. (Ed.): Official Methods of Analysis of the AOAC Arlington, 1984.
6. Ranft, K.; Gerstl, R.; Mayer, G.: Z.L.U.F. **191.**, 449, 1990.
7. Schwadorf, F.; Mueller, H., M.: J. Chromatogr. **595.**, 259, 1992.
8. Lauren, D., R.; Agnew, M., P.: J. Agric. Chem. **39.**, 502, 1991.
9. Trenholm, H., L.; Warner, R., M.; Prelusky, D., B.: I. Of AOAC **68.**, 645, 1985.
10. Rood, H., D.; Jr. Buck, W., B.; Swanson, S., B.: J. Agric. Food Chem. **36.** **74.**, 1988.
11. Scudamore, K.; Hetmanski, M.: Mycotoxin Res. **8.** **37.**, 1992.
12. Kohler, G.; Milstein, C.: Nature, **256.**, 495, 1975.
13. Candlish, A., A., G.; Haynes, C., A.; Stimson, W., H.: Int. J. Food Sci. Technol., **23.**, 479, 1988.
14. Groopman, J., D.; Donahue, K., F.: J. of AOAC, **71.**, 861, 1988.
15. Morgan, M., R., A.: Immunological clean-up procedures, in: Proc. EURO FOOD CHEM VIII., Vol. 1. Sonntag, G.; Pfannhauser, W.: Eds., Vienna, 1995., pp. 185-191.
16. Trucksess, M., W.; Stack, M. E.; Nesheim, S.; Page, S., W.; Albert, R., H.: J. of AOAC, **74.**, 81., 1991.
17. Mortimer, D., N.; Gilbert, J.; Shepherd, M., J.: J. Chromatogr., **407.**, 393., 1991.
18. Bisson, E.; Byass, L.; Garner, A.; Garner, R., C.: Food Agric. Immunol., **6.**, 331, 1994.
19. Abouzied, M., M.; Pestka, J., J.: J. of AOAC, **77.**, 495, 1994.
20. MSZ-08-1149-1988.: A zearalenon (F-2 toxin) vizsgálata gabonafélékban és ipari takarmányokban.
21. Kaminura, H.; Nishijima, M. Yashuda, K.; Saito, K.; Ibe, A.; Nagayama, T.; Ushiyama, H.; Naoi, Y.: J. of AOAC, **64.**, 1067., 1981.
22. Bata, Á.; Ványi, A.; Lásztity, R.: J of. AOAC, **66.**, 577., 1983.
23. Scott, P., M.: J. of AOAC, **74.**, 1020., 1991.
24. Bata, Á.; Fekete, J.; Harrach, B.: Method for the determination of manurally occurring trichotecene toxins, in: Chromatographia **84**, Kalász, H.; Ettore, L., S., Eds., Akadémiai Kiadó, Budapest, 1986., pp. 325-332.
25. Kanhere, S., R.; Scott, P., M.: J. Chromatogr., **511.**, 384, 1990.
26. Kientz, C., E.; Verweij, A.: J. Chromatogr., **355.**, 229, 1986.
27. Lauren, D., R.; Greenhalgh, R.: J. of AOAC, **70.**, 479., 1987.
28. Ware, G., M.; Francis, O., J.; Carman, A., S.: Kuan, S., S.: J. of AOAC, **69.**, 899, 1986.

29. Trucksess, M., W.; Flood, M., T.; Mossaba, M., M.; Page, S., W.: *J. Agric. Food Chem.*, **35.**, 445, 1987.
30. Bata, Á.: Occurrence of patulin in Hungarian apple products, in: *Proc. Euro Food Chem. III.*, Antwerpen 1985., pp. 303-307.
31. Bata, Á.; Galács, J.: zeralenon és metabolitjainak szétválasztása kapilláris GLC-vel *Kromatogr. Vándorgyűlés előadásai*, Sopron, 1980., pp. 155-156.
32. Schwadorf, K.; Mueller, H., M.: *Chromatographia*, **32.**, 137., 1991.
33. Lindfors, E.; Berg, S.; Rizzo, A.: Determination of trihotecene toxins as their trimethyl-silyl and heptafluorobutyryl derivatives, in: *feeds and grains. Proc. Of Jap. Ass. Of Mycotoxicol.*, Aibara et al Eds., Tokyo, 1988., pp. 57-58.
34. Bata, Á.; Ványi, A.; Sándor, G.: Metabolisation of trihotecene toxins in chicken embryo., *Proc. Int. Symp. On Mycotoxins*, Cairo, 1983., pp. 26-27.
35. Bata, Á.; Ványi, A.; Sándor, G.: *Acta Vet.*, **32.**, 147, 1983.
36. Ványi, A.; Bata, Á.; Kovács, F.: *Magyar Állatorvosok Lapja*, **49.**, 350, 1994.
37. Ványi, A.; Bata, Á.; Kovács, F.: *Acta Vet. Hung.*, **42.**, 447, 1994.
38. Ványi, A.; Bata, Á.; Glávits, R.; Kovács, F.: *Acta Vet. Hungt.*, **42.**, 433, 1994.
39. Rafai, P.; Tuboly, S.; Bata, Á.; Tilly, A.; Ványi, A.; Papp, Z.; Jakab, L.; Tu, E.: *Veterinary Record*, **136.**, 485., 1995.
40. Bata, Á.; Sharobeem, S.; F.: *Proc. Of Euro Food Chem. III.*, Antwerpen, Vol. 2., pp. 298-302.
41. Goto, T.; Manabe, M.; Matsura, S.: *Agric. Biol. Chem.*, **42.**, 2003, 1978.
42. Lauren, D., R.; Greenhalgh, R.: *J. of AOAC*, **70.**, 479, 1987.
43. Kuronen, P.: *Arch. Environm. Contam. Toxicol.*, **18.**, 336., 1989.
44. Sylvia, V., L.; Phillips, T., D.; Clement, B., A.; Green, L., L.; Kubena, L., F.; Heidelbaugh, N., D.: *J. Chromatogr.*, **362.**, 79., 1986.
45. Scott, P., M.: *Cereal Foods World*, **35.**, 661., 1990.
46. Novotny, P.; Baltés, W.; Krönert, W.; Werber, R.: *Chem. Microbiol. Lebensm. Technol.*, **8.**, 29., 1990.
47. Ranfft, K.; Gerstl, R.; Mayer, G.: *Agrobiol. Res.*, **43.**, 44., 1990.
48. Czerwiecki, L.: Determination of ochratoxin-A in cereal foods by HPLC *Proc. Euro Food Chem. VIII.*, Sonntag, G.; Pfannhauser, W., Eds., Vienna, 1995., pp. 311-315. Vol. 2.
49. Yagen, B.; Sintov, A.; Bialer, M.: *J. Chromatogr.*, **356.**, 195., 1986.
50. Bayliss, M., A.; Homer, R., B.; Shepherd, M., J.: *J. Chromatogr.*, **445.**, 393., 1988.
51. Cohen, H.; Boutin-Uma, B.: *J. Chromatogr.*, **595.**, 193., 1992.
52. Sano, A.; Matsutani, S.; Suzuki, M.; Takitani, S.: *J. Chromatogr.*, **410.**, 427, 1987.
53. Kurata, H.; Ueno, Y.: (Eds.) *Toxigenic fungi-their toxins and health Hazardm Kodansa*, Tokyo, and Elsevier, Amsterdam, 1986.
54. Richard, J., L.; Thurston, J., R.: *Diagnosis of mycotoxicoses*, Martinus Nijhoff, Dordrecht, 1986.
55. Yagen, B.; Sintov, A.; Bialer, M.: *J. Chromatogr.*, **362.**, 79., 1986.
56. Bayliss, M., A.; Homer, R., B.; Shepherd, M., J.: *J. Chromatogr.*, **445.**, 393., 1988.

57. Sano, A.; Matsutani, S.; Suzuki, M.; Takitani, S.: *J. Chromatogr.*, **410.**, 427., 1987.
58. Tiebach, R.; Blaas, W.; Kellert, M.; Steynmeyer, S.; Weber, R.: *J. Chromatogr.*, **318.**, 103., 1985.
59. Kalinoski, H., T.; Udseth, H., R.; Wright, B., W.; Smith, R., D.: *Anal. Chem.*, **58.**, 2421., 1986.
60. Trucksess, M., W.; Stack, M., E.; Nesheim, S.; Page, S., W.; Albert, R., H.: *J. of AOAC*, **74.**, 81., 1991.
61. Bata, Á.; Harrach, B.; Ujszászy, K.: *Proc. 4-th Danube Symp. On Chromatography, Bratislava, 1983.*, pp. 39-40.
62. Bata, Á.; Fekete, J.; Harrach, B.: *Proc. Symp. Advances in Liqu. Chrom.*, Szeged, 1984., p. 10.
63. Shepard, G., S.; Sydenham, E., W.; Thiel, P., G.; Gelderbloom, W., C., A.: *J. Liqu. Chrom.*, **13.**, 2077, 1990.
64. Shdenham, E., E.; Shepard, G., S.; Thiel, P., G.: *J of AOAC*, **75.**, 313, 1992.
65. *Instruction manual for the aflatoxin B1, ochratoxin-A, DON and zearalenone ELISA kit, R-Biopharm.*, 1995.
66. Pestka, J., J.: *J. of AOAC*, **71.**, 1075, 1988.
67. Mayer, W.; Schwaiger, I.; Hörtner, H.: *ELISA determination of four mycotoxins in cereals*, in: *Proc. Euro. Food Chem. VIII.*, Sonntag, G., Phannhauser, W., Eds., Vienna, 1995., pp. 242-245.
68. Xu, Y., C.; Zhang, G., S.; Chu, F., S.: *J. of AOAC*, **71.**, 945, 1988.
69. Van Pereghem, C.; Vanoost, W., Eds., Vol.1., Vienna, 1995., pp. 179-184.
70. Abouzied, M., H.; Pestka, J., J.: *J. of AOAC*, **77.**, 495, 1994.
71. Schneider, E.; Dietrich, R.; Martlbauer, E.; Usleber, E.; Retplang, G.: *Food Agric. Immunol.*, **3.**, 185, 1994.
72. Schneider, E.; Usleber, E.; Terplan, G.: *Food Agric. Immunol.*, **3.**, 103, 1991.
73. Usleber, E.; Schneider, E.; Terplan, G.: *Agric. Food Chem.*, **41.**, 2019, 1993.
74. Rousseau, D.; Siegers, C.; Van Peteghem, C.; Claves, J.: *Labelled Compd. Rad.*, **21.**, 429, 1984.
75. Abbas, H., K.; Shier, W., T.; Mirocha, C., J.: *J. of AOAC*, **67.**, 607, 1984.
76. Ványi, A.; Bata, Á.; Kovács, F.: *Acta Vet. Hung.*, **42.**, 79, 1994.
77. Ványi, A.; Bata, Á.; Kovács, F.: *Magyar Állatorvosok Lapja*, **49.**, 350, 1994.
78. Schmidt, R.: *Mycotoxin Res.*, **1.**, 25, 1985.
79. Eppley, R., M.: *J. of AOAC*, **57.**, 614, 1974.
80. Harrach, B.: *Magyar Állatorvosok Lapja*, **35.**, 781, 1980.
81. Bijl, J.; Van Pereghem, C.: *Environm. Pollut.*, **26.**, 173, 1981.
82. Brow, R., F.; Wildman, J., D.; Eppley, R., M.: *J. of AOAC*, **51.**, 905, 1968.
83. Badaway, A.; Halász, A.; Sawinszky, J.; Kozma, E.: *Acta Alim.*, **16.**, 13, 1986.
84. Halász, A.; Badaway, A.; Sawinszky, J.; Kozma, E.: *Élelmészeti Ipar*, 11., 46, 1986.
85. Halász, A.; Badaway, A.; Sawinszky, J.; Kozma, E.; Beczner, J.: *J. Folia Microbiol.*, 34., 228, 1989.

A mikotoxin analitika jelenlegi helyzete és fejlődési irányai

Lásztity Radomir

Bár a vékonyrétegkromatográfiai módszerek alkalmazása a mikotoxin analitikában általánosan elterjedt, a szigorodó előírások egyre inkább szükségessé teszik újabb nagy érzékenységű műszeres vizsgálatok bevezetését. Ezek közül elsősorban a gázkromatográfia (kapilláris GC), valamint a HPLC (RP-HPLC) alkalmazása bővült. A legújabb irányzat az immunkémiai módszereket részesíti előnyben nagymértékű specifikussága, érzékenysége és viszonylagos olcsósága miatt. A biológiai tesztek elterjedése meglehetősen korlátozott.

Status and Current Trends of Mycotoxin Analysis

Lásztity, R

Although the application of thin layer chromatographic methods in mycotoxin analysis is widespread, the more and more strict regulations necessitate the introduction of new instrumental methods of high sensitivity. Among these the application of gas chromatography (capillary GC) as well as HPLC (RP-HPLC) is mainly broadened. The latest trend prefers immunochemical methods for their sensitivity and relatively low cost. The application of biological tests is rather limited.

Der gegenwärtige Stand der Mykotoxinanalytik und ihre Entwicklungstrends

Radomir Lásztity

Obwohl die Anwendung der dünn-schichtchromatographischen Methoden in der Mykotoxinanalytik allgemein verbreitet ist, wird der Einsatz von moderneren Instrumentalmethoden mit hoher Empfindlichkeit durch die strenger werdenden Vorschriften immer mehr erforderlich. Von diesen werden in erster Linie die Gaschromatographie (Kapillar-GC) und die HPLC (RP-HPLC) immer mehr angewandt. Vor allen Dingen werden die immunochemischen Methoden wegen ihrer Spezifität, Empfindlichkeit und verhältnismäßig günstigen Preislage bevorzugt. Die Verbreitung der biologischen Tests ist ziemlich begrenzt.