

KIHIVÁSOK A MIKOTOXIN ANALITIKÁBAN

Egy nem analitikus szempöngéböl

**MÉZES MIKLÓS
MAGYAR AGRÁR ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM
ÉLETTANI ÉS TAKARMÁNYOZÁSTANI INTÉZET
TAKARMÁNYBIZTONSÁGI TANSZÉK
GÖDÖLLŐ**

KIHIVÁSOK A MIKOTOXIN ANALITIKÁBAN

A vizsgált laboratóriumi minta adott tételt reprezentáló jellege - homogenitás vs inhomogenitás

„Az eredmények a laboratóriumba beérkezett mintára vonatkoznak”

Azaz a laboratóriumi vizsgálati eredmény nem feltétlenül tükrözi a mintavételi alap mikotoxin szennyezettségének valós értékét.

Ez azonban nem analitikai, hanem mintavételi probléma.

KIHIVÁSOK A MIKOTOXIN ANALITIKÁBAN

Mintavétel szabályainak betartása

Mikotoxinok esetében olyan mértékben inhomogén az eloszlás, hogy csak jelentős számú rész minta elegyítésével nyert laboratóriumi minta tekinthető viszonylag reprezentatív jellegűnek.

A mérendő anyag mennyiségének csökkenésével (mg/kg → µg/kg) nem lineárisan nő az inhomogenitás mértéke.

KIHIVÁSOK A MIKOTOXIN ANALITIKÁBAN

Extrakció

Eltérő polaritású mikotoxinok kivonása lehetőleg egy extrakciós lépésben függ a vizsgálandó mikotoxin(ok) polaritásától, ami csak eltérő összetételű, és polaritású oldószer(ek)kel valósítható meg

Extrakció hatékonysága (recovery) – csak „spike-olt” mintából határozható meg viszonylag pontosan, **DE** a hozzáadott mikotoxin más mátrixban van, mint a mintában, ezért az hatékonysága sem lehet azonos.

A mátrixhatás miatt a recovery értékét minden lehetséges mátrixból el kell végezni (akkreditációs kritérium!)

KIHIVÁSOK A MIKOTOXIN ANALITIKÁBAN

Extrém minták – pl. munkaegészségügyi mikotoxin terhelés

Munka-környezet	Mintavétel helye	Mért mikotoxin tartalom
<i>Földimogyoró malom</i>	Leülepedett por	250-410 ng AFB1/g
	Levegő	0,9-72 ng AFB1/m ³
<i>Magtár</i>	Leülepedett por	104 ng OTA/g 244 ng citrinin/g
	Levegő	2 ng DON/ m ³ 1 ng ZEA/ m ³
<i>Gabona betakarítás</i>	Leülepedett por	<20 ng/DON/g 54 ng HT-2 toxin/g
	Levegő	0,3-91 ng AFB1/ m ³

KIHIVÁSOK A MIKOTOXIN ANALITIKÁBAN

„Maszkolt” mikotoxinok (mikotoxin glükozidok) extrakciója

Glükozidáz enzimes előkezelés megoldás lehet, **DE** az így felszabadított összes mikotoxin mennyiség „túlértékelt” lesz, mert nem pontosan ismert a mikotoxin-glükozidokból az emésztőtraktusban enzimatikus hidrolízis hatására ténylegesen felszabaduló, és különösen nem a bélcsatornából felszívódó mennyiség.

KIHIVÁSOK A MIKOTOXIN ANALITIKÁBAN

Immunaffinitás oszlopon történő előtisztítás:

Hatékonyágát befolyásolja az oszloptöltet specifitása, illetve Multitoxin mérésekhez alkalmazott oszlopoknál azok „érzékenysége” a vizsgálandó mikotoxinokra.

Az immunanalitikai módszerek nagy előnye, hogy ezek alkalmazása során ilyen előtisztítási lépésre nincs szükség.

KIHIVÁSOK A MIKOTOXIN ANALITIKÁBAN

Immunanalitikai eljárások:

A módszer specifitását és érzékenységét az alkalmazott antitest határozza meg.

Például az antitest csak az adott mikotoxin alapvegyületre, vagy annak metabolitjaira is reagál-e (pl. glükozidok, acetilált származékok)?

Milyen mértékű keresztreakciókkal kell számolni más, hasonló kémiai szerkezetű mikotoxinokkal?

Multi-mikotoxin mérésre javasolt immunanalitikai eljárások során hogyan küszöbölhetők ki a keresztreakciók?

KIHIVÁSOK A MIKOTOXIN ANALITIKÁBAN

Immunanalitika és flow citometria:

Antitest specifitás ebben az esetben is meghatározó jelentőségű az alapvegyület és metabolitjai között fennálló esetleges keresztreakciók miatt.

Detektálási módszer specifitása miatt több mikotoxin egyidejű mérésére is lehetőség van.

KIHIVÁSOK A MIKOTOXIN ANALITIKÁBAN

Kromatográfiás eljárások:

Hatékonyágát befolyásolja az oszloptöltet elválasztó képessége.

A legnagyobb mértékű elválasztó képességet lehetővé tevő eluálási módszer kiválasztása (eluens megválasztása; izokratikus vs grádiens)

Detektálási módszer kiválasztása:

Mire vagyok kíváncsi? – alapvegyület + metabolitok

Mennyi idő áll rendelkezésre? - áteresztőképesség

KIHIVÁSOK A MIKOTOXIN ANALITIKÁBAN

Standard:

Kémiai/analitikai tisztaság

Metabolitoktól való mentesség

Metabolitok mérése esetén – azok elérhetősége

Mely metabolitok mennyiségi mérése indokolt rutin analízis során?

KIHIVÁSOK A MIKOTOXIN ANALITIKÁBAN

Eredményközlés:

Minta aktuális szárazanyag tartalmára vagy abszolút szárazanyagra vonatkoztatva?

Pl. takarmány alapanyagok és takarmányok esetében az EU kötelező és javasolt határértékek 88% szárazanyag tartalmú mintára vonatkoznak.

Párhuzamos minták közötti eltérések – célszerű 3-5 párhuzamos mintát mérni, amelyek eltérő részmintákból származnak (az inhomogenitásból eredő hiba ilyen módon részben csökkenthető)

KIHIVÁSOK A MIKOTOXIN ANALITIKÁBAN

Biológiailag/ toxikológiailag aktív metabolitok mennyisége

Minden olyan esetben szükséges ezek megadása, ha erről a vonatkozó jogszabály rendelkezik, akár kötelező, akár javaslati érték szinten.

A takarmányokban és/vagy élelmiszerekben szabályozott mikotoxinok

Aflatoxinok (B1,B2,G1,G2)

Ciklopiazonsav

Citrinin

Deoxinivalenol, *3-acetildeoxinivalenol, 15-acetildioxinivalenol (glükózid)*

Diacetoxiszcirpenol

Fumonizin B1+B2

Fuzarinsav

T-2/HT-2 toxin (glükózid)

Moniliformin

Nivalenol

Neoszolaniol

Ochratoxin A

Patulin

Rubratoxin

Tenuazonsav *(csak bébiételekben szabályozott)*

Zearalenon (glükózid)

Takarmányokban és/vagy élelmiszerekben nem szabályozott, de javaslati értékkel rendelkező mikotoxinok

Alternariol és alternariol metiléter

Enniatinok

Citreoviridin

Fumagilin

Gliatoxin

Krotocin

Penicillinsav

Pentirem A

Satratoxin F,G,H

Sterigmatocisztin (*származtatott javaslati érték AFB1 alapján*)

Trichodermin

Trichothecin

Verrukarin