

## Körültekintően a határértékekkel!

### Aflatoxin B1-ből aflatoxin M1

Kótiné Dr. Seenger Julianna, Dr. Dégen László, Dr. Monostori Attila

Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft.

A kérődzők komplex takarmánya többféle mikotoxint tartalmazhat. Az egyes komponensek – szálas, abrak, illetve egyéb tartósított tömegtakarmányok, melléktermékek – különféle mikotoxinokat tartalmazhatnak eltérő mértékű szennyezettségi szinttel. A mikotoxinok egy részét a bendő mikroflórája képes inaktíválni, mások változás nélkül áthaladnak rajta. Ezekre a lehetőségeken kívül van egy harmadik lehetőség, amikor a toxinok átalakulnak másféle biológiailag aktív metabolitá.

A bendő „barrier” (gát) funkciója nagymértékben meghatározza a tejelő tehenek és más kérődző fajok egyes mikotoxinokkal szembeni érzékenységét. Amennyiben egy betegség, vagy egyes meghatározott mikotoxin antimikrobiális hatására ez a barrier funkció sérül, úgy az abszorpció (felszívódási) ráta megnövekedhet. Az abszorpció ráta nem csak a szervezeten belüli dózist és az állategészségügyi szempontból káros hatást határozza meg, hanem a mikotoxinok szervezetből történő kiválasztódását és a biológiailag aktív metabolitok megjelenésének mértékét is a tejben.

Kiessling és mtsai már 1984-ben megállapították, hogy a kérődző állatoknál sokkal ritkábban fordul elő mikotokozis, aminek az a magyarázata, hogy a bendőflóra egy elsődleges védvonalként működik a mikotoxinokkal szemben (Kiessling és mtsai 1984).

Az aflatoxinokat csak részben képes bontani a bendőflóra, amelynek tipikus másodlagos metabolit eredménye az aflatoxikol. Az aflatoxinok való károsodásokat okoz a májfunkcióban, illetve takarmányfelvétel csökkenést eredményez, mely közvetlen magyarázatot adhat az aflatoxinnal szennyezett takarmánnyal etetett tejelő marháknál a tejhozam-csökkenésre. Az aflatoxin szennyezettséggel összefüggésbe hozható májfunkció elégtelenség fotoszenzibilitást okozhat (Miller and Wilson, 1994).

#### Az aflatoxinok átjutása a tejbe kérődzőknél

Az aflatoxinok a legszélesebb körben vizsgált toxinok a tejelő marháknál, mivel a tejjel ürülő aflatoxin M1 humánegészségügyi kockázatot jelenthet. Aflatoxinnal szennyezett takarmány fogyasztása után a szervezetbe került aflatoxin B1 egy része lebomlik a bendőben, és aflatoxikollá alakul. A fennmaradó frakció passzív

diffúzióval felszívódik az emésztő traktusban, és a májban a hidroxiláció során aflatoxin M1 változattá alakul (Kuilman et al. 2000). Az aflatoxin M1 vagy glukoron savvá alakul, és az epével távozik, vagy bekerül a szisztémás keringésbe. A keringő aflatoxin M1 ürülhet a vizelettel, vagy megjelenhet a tejben is.

Eleinte a tejjel ürülő aflatoxin M1 mennyiségét az elfogyasztott aflatoxin B1 1-2%-ának vették (Van Egmond 1989). A takarmányból tejbe történő átjutás (carry over) mértékét számos takarmányozási és fiziológiai tényező befolyásolja; ezen belül a takarmányozási stratégia, a szárazanyag-felvétel, az emésztés mértéke, az állat egészségi állapota, a máj biotranszformációs kapacitása, és az aktuális tejtermelési szint.

Ebből adódik, hogy az aflatoxinok abszorpciója, és az aflatoxin M1 tejjel való ürülésének mértéke egyedről egyedre, napról napra, illetve egyik fejről a másikra változhat. A nagytejű teheneknél, mivel az abrakfogyasztás jelentősen nagyobb mértékű, a „carry over” akár a 6,2%-ot is elérheti (Veldman et al. 1992). A nagyobb szárazanyag-felvétel és a gyorsabb bendő passzázs miatt az aflatoxinnal szennyezett takarmánynak kevesebb idő áll rendelkezésre, hogy a bendőbaktériumok tevékenysége által lebomoljon.

Az aflatoxinnal szennyezett takarmány felvétele után az aflatoxin M1 már néhány órán belül megjelenik a tejben, ugyanakkor, ha az állat nem fogyaszt újra szennyezett takarmányt, az 2-3 napon belül kiürül a szervezetéből és már a tejben sem lesz jelen.

Az aflatoxin M1 rákkeltő hatása majdnem ugyanolyan mértékű, mint az aflatoxin B1 formáé, és a toxikológiai tulajdonságaik is nagyjából összevethetők (Henry és mtsai 2001). Figyelembe véve ezeket a toxikológiai megfigyeléseket, számos ország megállapította aflatoxin M1-re vonatkozóan a tejben és tejtermékekben maximálisan elfogadható szintet. A JECFA az USDA-t beleértve a maximálisan megengedhető aflatoxin M1 szintet 0,5 µg/kg (0,5 ppb, azaz 500 ppt) értékben állapították meg. Ezzel szemben Európában, valamint Afrika, Ázsia és Latin-Amerika egyes országaiban a maximális határt 0,05 µg/kg (0,05 ppb, azaz 50 ppt) értéknél határozták meg a gyermekek magas arányú tej és tejtermék fogyasztására

hivatkozva (Egmond és mtsai 2007). Ennek a célnak az elérése érdekében jogszabályban rögzített értéket állapítottak meg takarmányokra, ezen belül tejelő tehenek takarmányára vonatkozóan.

Következésképpen számos szerző próbálta meghatározni, hogy a jelenleg hatályos európai uniós szabályozásban megfogalmazott, takarmányokra vonatkozó aflatoxin B1 szint megfelelő-e arra, hogy a tej aflatoxin M1 szintje a meghatározott 50 ppt alatt tartható legyen.

Pettersson készített egy modell kalkulációt, hogy meghatározza az elfogyasztott aflatoxin B1 mennyiség aflatoxin M1 formában történő átjutását a tejbe (Pettersson, 1998). Ez az egyenlet 5 beállított kísérlet 10 megfigyelésén alapult, és a következőképpen fejezte ki:

$$\text{Napi várható Aflatoxin M1 koncentráció a tejben (ppt)} = 10,95 + (0,787 \times \text{aflatoxin B1 } \mu\text{g bevitel/nap})$$

$$(r^2=0,915)$$

2004-ben egy adatsor elemzést végeztek több olyan kísérletre, ahol a napi takarmányadag kevesebb, mint 150  $\mu\text{g/kg}$  takarmány koncentrációban tartalmazta az aflatoxin B1 toxint (21 megfigyelés 6 különböző vizsgálatból), és ennek során sokkal kisebb mértékű összefüggést találtak ( $r^2=0,417$ ), amely a számítás megbízhatóságának esetleges pontatlanságára mutat rá.

Számos tanulmány foglalkozott az aflatoxin B1 M1-gyé történő alakulásával a szarvasmarhánál az utóbbi években. Ezek a tanulmányok azt mutatták ki, hogy amennyiben a tejelő állományt napi kétszer fejik, és alacsony termelésű (kevesebb, mint 30 kg tej/nap) állományról van szó, akkor az átjutásra 1-2%-ot számolhatunk. Azonban ez az érték 6% körüli a nagytejű (több, mint 30 kg tej/nap) teheneknél. Az átjutás mértéke tehát közvetlen összefüggésbe hozható a tejhozammal, továbbá a tejelő napok számával. A laktáció elején lévő (2-4 héttel ellést követően) tehenek magasabb tejhozama nagyobb átjutási aránnyal párosul, míg a laktáció kései fázisaiban lévő teheneknél (34-36 héttel ellést követően), amikor a tejtermelés intenzitása csökken és tejtermelés alacsonyabb (Britzi és mtsai, 2013).

További hatások, amelyek befolyásolják az átjutás mértékét (gyakran egyedi szinten), a fajtajelleg, az egyed általános egészségi állapota, a máj biotranszformációs kapacitása, a takarmány (toxin) fogyasztás mértéke, a tőgy alveoláris sejtmembrán épsége (Britzi és mtsai, 2013).

### Az aflatoxikol

Habár az aflatoxin M1-et jelölik meg a legjelentősebb tejjel ürülő metabolitként tejelő marháknál és más kérődzőknél, de emellett M2 és M4 is ürül a tejjel, bár igen kis mennyiségben. Az M2 és M4 az egyéb természetesen előforduló aflatoxinokból eredően a máj biotranszformációs folyamataiból származik. Továbbá a legújabb kutatási eredmé-

nyek szerint aflatoxikol is átjuthat a tejbe (Carvajal et al. 2003).

Az aflatoxikol az aflatoxin B1 metabolitja, amelyet a bendőflóra mikroorganizmusai állítanak elő, amit Auerbach és mtsai. (1998), in vitro kísérletben kimutattak egy radioaktív jelölt aflatoxinnal. Ezzel ellentétben Kuilman és mtsai. (2000) izolált funkcionális marha hepatocitákkal nem tudták az aflatoxikol bármely formáját sem kimutatni, így ők kizárták, hogy a máj biotranszformációs folyamatai aflatoxikolt termelnek szövet szinten.

Habár a nemzetközi szakirodalomban fellelhetőek olyan vizsgálatok, amelyek a tej és tejtermékekben előforduló aflatoxikol szintet elemzik, azonban ezek a kísérletek még további megerősítésre várnak.

A legvalószínűbb ok, amiért az aflatoxikolt nem mutatták ki korábban, az lehet, hogy az aflatoxikolnak nincs fluoreszcens tulajdonsága, míg az aflatoxin M1, M2 és M4 formáknak megvan az aflatoxinokra jellemző fluoreszcens spektrumuk. A fluoreszcens tulajdonság hiánya más, az aflatoxin M1-től különböző detekciós módszereket kíván meg (Fink-Gremmels, 2008).

### Számoljunk csak! Mennyi lesz a tej aflatoxin szintje?

Tehát, ha egy olyan TMR-t etetünk, amelynek mért toxinkoncentrációja eredeti anyagra vonatkoztatva 1 ppb, a TMR szárazanyag tartalma 500 g/kg, akkor ugyanennek a takarmánynak az abszolút szárazanyagra vetített toxinkoncentrációja 2 ppb. A jogszabályban szabályozott 12%-os nedvességtartalomra vonatkoztatott aflatoxin B1 toxinkoncentrációja pedig 1,76. Tehát az utolsó számértéket nézve ez a takarmány még a megengedett maximális érték (5 ppb) felét sem éri el! Ha fent említett takarmányból napi 46 kg-et etetünk, azaz 23 kg szá. mennyiséget, akkor naponta 46  $\mu\text{g}$  aflatoxin B1 toxin kerül a tehén szervezetébe.

Végezzünk egy becslést a Pettersson (1998) képlet szerint: a tej várható aflatoxin M1 koncentrációja 47,15 ppt lesz, azaz majdnem hogy eléri a megengedett határértéket.

Ha a hozamtól függő százalékos átjutás számítását vesszük alapul, akkor a következő eredményre jutunk.

Ha a fenti példában vázolt TMR-ünket vesszük alapul, tehát a toxinbevitel továbbra is napi szinten 46  $\mu\text{g}$ , napi 26 kilogramm tejhozamot feltételezve, 2%-os átjutással számolunk, akkor ezek alapján 35,4 ppt aflatoxin M1 koncentrációjú teje számíthatunk.

Azonban ugyanezt a TMR-t nagytejű tehenekkel etetve, 38 kilogramm napi hozamot számolva, 6%-os átjutással kalkulálva a tej várható aflatoxin M1 koncentrációja már jóval a megengedett határ feletti, azaz 72 ppt lesz.

Hogyan számoljunk a kukoricaszilázzsal? Ha van egy kukoricaszilázsunk, amely szárazanyag tartalma 350g/kg, aflatoxin B1 koncentrációja eredeti anyagban mérve 4 ppb

és ebből napi 27 kg-ot etetünk, hogyan alakul a tej aflatoxin M1 szintje? Ennek a sziláznak 12%-os szárazanyagra vonatkoztatva a toxinkoncentrációja 10,06, tehát pont a jogszabályban megengedett maximális érték (20 ppb) fele. A Pettersson képlettel számolva a tej várható toxinkoncentrációja 100 ppt lesz, azaz a tejben megengedett mennyiség duplája.

A százalékos kifejezést figyelembe véve 26 kg napi termelésű állományban 2%-os átjutással 83,07 ppt, míg a nagytejűeknél 6%-os átjutással 126 ppt koncentrációra számíthatunk. Tehát a takarmány a megengedett érték felénél volt, mégis jócskán átléptük a tej aflatoxin M1 határértékét.

Ezeknél a becsléseknél azonban nagyon körültekintőnek kell lennünk. Fontos, hogy a laboratóriumi vizsgálatra küldött TMR reprezentatív jellemezze a takarmány tételünket, amit minden igyekezetünk ellenére nehéz megvalósítani. Mivel a legtöbb takarmányból történő aflatoxin B1 analízis kimutatásának alsó határa 1 ppb, így fontos, hogy ne csak eredeti anyagra, hanem szárazanyagra is megkapjuk az eredményeket. Továbbá kalkulálnunk kell a képlet számított megbízhatósági faktorával is, illetve az egyedi hatásokkal.

Minél több a komoly mérésekkel alátámasztott vizsgálat, minél több információnk lesz arról, mely hatások milyen mértékben befolyásolják a toxinok hatását vagy átalakulását - továbbá a legnehezebb kérdés - minél többet tudunk meg a toxinok egymásra gyakorolt hatásáról, annál jobban meg tudjuk majd határozni a toxinok megengedhető legmagasabb előfordulási határértékét a takarmányokban. A fenti becslések segítséget nyújthatnak számunkra a döntés előkészítések során, azonban a válaszokat a laborvizsgálatok adják meg.

Ezért nehéz megbecsülni az etetett takarmány függvényében a tej toxinkoncentrációját. Egyet azonban látnunk kell. Ha az aflatoxin B1-et vesszük figyelembe, az etetett takarmányainknak jóval a megengedett határérték alatt kell lennie, és akkor számíthatunk toxin érintettség szempontjából biztonságos tejtermelésre.

A fenti képleteket alapul véve nem engedhetjük a napi aflatoxin B1 toxinbevitelünket 26 µg fölé, amely egy napi 23 kg szárazanyag tartalmú TMR-nél eredeti anyagban 0,6 ppb-t, 12% szárazanyagra vonatkoztatva 1,06 ppb értéket, és abszolút szárazanyagra vonatkoztatva 1,2 ppb értéket jelent.

Pettersson képletével ebben az esetben 31,69 ppt aflatoxin M1 koncentrációjú (már egy emelkedett szint!), 30 kg napi termelést és 2%-os átjutást feltételezve 17 ppt koncentrációjú, továbbá 38 kg napi termelést és 6%-os átjutást feltételezve 41 ppt (már kockázatosan emelkedett szint!) koncentrációjú tejjel számíthatunk.

Az EFSA (Európai Élelmiszer-biztonsági Hivatal) aflatoxin tejbe való átjutásának legkedvezőtlenebb forgatókönyvét alapul véve a jelentősebb tejelő állatfajokra vonatkoztatva – mint a tejelő marha, juh, kecske, tevé és bivaly – amelyben 2%-os (feltételezett

átlagos szinten) és 6%-os (nagytejű tehének) átjutással kalkulálva azt mutatta ki, hogy a legrosszabb esetben az aflatoxin M1 szint átlépheti az EU által megállapított 50 ppt-s szintet, még abban az esetben is, amikor a takarmány megfelel a hatályos jogszabályokban megfogalmazott értékeknek. Ez minden említett fajnál előfordulhat (EFSA, 2004).

Jelen cikkünkben megpróbáltuk bemutatni azt a szakma által elfogadott 3 módszert, ami alapján a tej aflatoxin tartalmát becsülni lehet az etetett takarmány aflatoxin tartalma alapján.

1. Pettersson képlet
2. 2%-os „transzformáció” napi 30 kg tejtermelés alatt
3. 6%-os „transzformáció” napi 30 kg tejtermelés felett

Mindegyik módszer esetében a számítás kiinduló sarokpontja a napi toxin felvétel helyes becslése, kiszámítása és a napi tejtermelés. Ehhez nélkülözhetetlen a TMR toxin szennyezettségének ismerete. A hatékony megoldás érdekében minél hamarabb meg kell ismernünk a toxin szennyezettség szempontjából kritikus alapanyagok toxin tartalmát. A gyors és pontos laboreredmény birtokában lehetőségünk lesz hatékonyan beavatkozni. Például megváltoztatjuk az etetett adag összetételét (toxin formulázás), toxin kötő használata mellett döntünk, stb. Szem előtt kell tartanunk azonban, hogy a számítás végeredménye, éppen úgy, mint maga a receptúrázás is sztohasztikus, tehát valamilyen valószínűségi szinten fog érvényesülni. Ha igazán a biztonságra akarunk törekedni, akkor még a nemzetközi ajánlásokban lévő határértékeket is fenntartással kell kezelnünk és annál biztonságosabb, alacsonyabb értékekkel kell dolgoznunk a receptúránk ismeretében.

Habár jelen cikkünkben az aflatoxinokra fókuszáltunk, a többi toxin esetében is felmerülhet a kérdés, milyen formában és mértékben jelennek meg a tejben, ha egyáltalán megjelennek. Itt is figyelniük kell-e a határértékekre, vagy sokkal alacsonyabban kell meghúznunk a saját magunk által felállított határokat, mint a nemzetközi ajánlások. Ezekről a következő számban írunk részletesebben.

