

Az Aflatoxin M1 kimutatása a Nyerstejminősítő Laboratóriumban

Sztarenszky Lídia, Kenéz Árpád, Jankó Szilvia
Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft.

Bevezetés

Az aflatoxin nevű gombaméreg első kimutatása az 1960-as években történt meg a nagy-britanniai baromfivész miatt. Ekkor a baromfitíp vizsgálata során kiderült, hogy az állatok tömeges megbetegedéséért nem vírus, hanem egy gombák által termelt mérge, az úgynevezett aflatoxin a felelős. Az idők folyamán a tudósok egyre nagyobb hangsúlyt fektettek erre a toxinra, így a tudományos berkekben is megnövekedett az ezzel kapcsolatos kutatások és publikációk száma. Természetesen az aflatoxin korábban, a történelmi idők során is létezett és sok problémát okozott, csak ekkor még ismeretlenül. Érdekességként megemlíthető, hogy Batu kán seregének lóállományában oly gyakran és nagy számban megjelenő betegségeket - a korabeli írott források alapján - is e toxinnal fertőzött takarmány okozhatta.

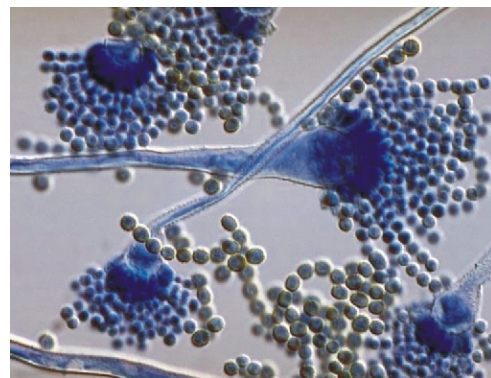
Az aflatoxinokat elsősorban az *Aspergillus flavus* és az *Aspergillus parasiticus* nevezetű penészgombafajok termelik az anyagcseréjük során. E mérge veszélyessége abban rejlik, hogy rákkeltő, a szervezetbe kerülve nem bomlik le, nem ürül ki, sőt az állati és emberi tejben egyaránt megjelenik, így átkerül az utódokba is. Már folyamatos, kis mennyiségű fogyasztás (1µg/Kg) esetén is tartósan károsulhat a máj, a vese, az izomszövet és az idegrendszer. Éppen ezért fontos, hogy a tejelő tehének takarmányozása során elkerüljük az Aflatoxin B1 típusú mérget tartalmazó takarmányt, ugyanis ez a toxin az állat emésztőszerv-rendszerében (a bendő mikroflórája révén) Aflatoxin M1 változáttá alakul, amely toxin - a laktációs időszakban a véráramba kerülve - a tejben, így a sajtban és egyéb tejalapú végtermékekben (az erjesztettek kivételével) a pasztőrözés ellenére is meg fog jelenni.

A fentiek értelmében e gombatoxin kutatásához és kimutatásához a mindennapi takarmány- és tejtermék előállítás miatt szigorú szabályozásokkal találkozhatunk az Európai Unióban érvényes jogszabályok vonatkozó részeiben. Jelenleg az 165/2010/EU rendeletben a határérték nyerstej, hőkezelt tej és anyatej-helyettesítő tápszerek esetében a következőképpen alakul: **0,050 µg/kg, avagy 50 ppt.**

Az EU tagállamokban a toxin észleléséhez gyorsvészjelző rendszer (RASFF = Rapid Alert System for Food and Feed) működik, amelyhez hazánkban a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal (NÉBIH) Élelmiszerbiztonsági Kockázatértékelési Igazgatósága (ÉKI) kapcsolódik. A tagállamok számára kötelező jelezni azon veszélyeket, amelyek az élelmiszerek, vagy takarmányok miatt az emberi egészséget közvetve vagy közvetlenül érintik. Az Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft.-nél a tej aflatoxin tartalma mellett a különböző takarmányfélék gombaméreg tartalmának kimutatására is van lehetőség a Takarmányanalitikai Laboratóriumban.

Aflatoxin M1 meghatározásra érkezett minták kezelése

Az aflatoxin kimutatás céljából vizsgálandó tejminták többnyire postai úton érkeznek be a teljesítményvizsgálati vagy a telepi önellenőrző mintákkal együtt (fontos megjegyezni, hogy az aflatoxin M1 kimutatását egyik tartósítószer fajta sem befolyásolja), ám alkalmanként eseti megrendelésként postával vagy kézben is kerülnek minták a Nyerstejminősítő Laboratóriumba.



1. ábra

Az *Aspergillus flavus* fonalairól és konídiumairól készült mikroszkópos felvétel
(forrás: <http://www.clt.astate.edu/mhuss/Aspergillus%20flavus%20pict.jpg>)

Az aflatoxin M1 tejből történő kimutatásához minimális mintamennyiség elegendő (0,5 ml), tehát lényegében külön mintavétel nélkül bármelyik, a fent említett mintatípusból elvégezhető. Az így keletkezett alminta centrifugacsőbe kerül, majd 8 °C-ra történő hűtést követően zsírtalanítás céljából centrifugáljuk (mintaoldat készítésének első fázisa).

Az alkalmazott aflatoxin kimutatás módszerének rövid ismertetése

A vizsgálat az ún. ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay: enzimhez kötött ellenanyag vizsgálat) módszeren alapul, amelynek lényege antigén-antitest reakció. A módszer alapja, hogy a szilárd fázishoz kötött ellenanyag és az oldatban lévő antigén kapcsolódását egy enzim működése jelzi. Az antigén-antitest kapcsolódás kimutatásához olyan *kromogénre* van szükség, amely az enzimreakció következtében színváltozáson megy át. Így az átalakított kromogén mennyisége arányos az enzimaktivitással, ami a megkötött antigén vagy ellenanyag mennyiségének függvénye. Az enzim bontása révén kialakuló színreakció segítségével határozható meg a toxin mennyisége. A színváltozást fotométer segítségével 450 nm-en mérjük. Az abszorbancia a minta Aflatoxin M1 koncentrációjával fordítottan arányos, tehát a magas értékek a tej alacsony aflatoxin M1 tartalmára utalnak.

A vizsgálatához használt KIT hat különböző ismert Aflatoxin M1 koncentrációjú standard mintát tartalmaz, ezen mintákra kapott abszorbancia értékek alapján történik a kalibráció, majd egy szoftver segítségével a minták Aflatoxin M1 koncentrációjának meghatározása.

A vizsgálat pontossága ismert Aflatoxin M1 koncentrációjú anyagminták vizsgálatával ellenőrizhető, de akkreditált vizsgálat lévén további ellenőrzésekre is szükség van.

Laboratóriumunk folyamatosan végez belső auditokat és éves szinten több nemzetközi és hazai körvizsgálaton is részt vesz.

Fontos megjegyezni, hogy csak abban az esetben megbízhatóak az eredmények, ha a vizsgálat folyamata szabályozott és ellenőrzött, valamint az előírásokat a mintavételtől a jegyzőkönyv kiadásáig szigorúan betartják/betartatják. Ehhez szorosan kapcsolható a méréshez szükséges eszközök, anyagok előkészítése, kezelése (pl. tárolás, szobahőmérsékletre való felmelegítés, inkubációs idők pontos betartása stb.). A mérési pontosság biztosítása érdekében a pipetták ellenőrzése háromhavonta, kalibrációjuk pedig évente történik.

Jegyzőkönyv elkészítése, küldése, szakvélemény kiadása

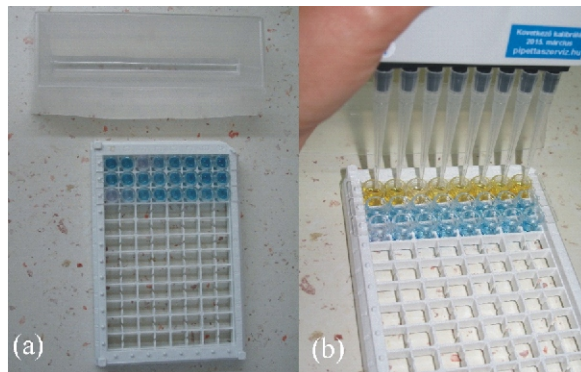
A laboratóriumba délig beérkező minták vizsgálata még aznap megtörténik, a mérési jegyzőkönyvet a megadott e-mail címre még a délután folyamán eljuttatjuk.



3. ábra A vizsgálatához használt fotométer

az eredményközlés, az eredmények véleményezése tartozik, a hatóságok értesítése nem.

Az Aflatoxin M1 szintjének folyamatos ellenőrzése élelmiszerbiztonsági okokból kifolyólag a fogyasztók érdekeit szem előtt tartva mind a termelő, mind a felvásárló, mind a feldolgozó fontos feladata.



2. ábra

- (a) Az enzimkonjugát okozta kék színváltozás
- (b) A reakciót leállító STOP reagens okozta sárga színváltozás