

Monitoring of multi-mycotoxin contamination of pig feeds and comparison of results in years 2016, 2017 and 2018

J. Szabó-Fodor^{1*}
B. Bóta¹
G. Mihucz²
M. Sulyok³
J. Tenke⁴
M. Kovács^{1,2}

1. MTA KE Mikotoxinok az Élelmiszerláncban Kutatócsoport, 7400 Kaposvár, Guba S. u. 40.

*e-mail: fodor.judit@ke.hu

2. SZIE Kaposvári Campus AKK Mikotoxinok az Élelmiszerláncban Kutatócsoport, Kaposvár

3. Department IFA-Tulln, BOKU Vienna, Tulln

4. Bólyi Mezőgazdasági Termelő és Kereskedelmi Zrt., Bóly

Hazai sertéstakarmányok multi-mikotoxin szennyezettségének vizsgálata és az eredmények összehasonlítása 2016, 2017 és 2018-ban

Szabó-Fodor Judit^{1*}, Bóta Brigitta¹, Mihucz Gábor², Michael Sulyok³, Tenke János⁴ és Kovács Melinda^{1,2}

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők jelen vizsgálatukban bemutatják sertéstakarmány-minták több száz mikotoxin, ill. származék koncentrációjának meghatározását. A mintákban a legtöbb mikotoxin esetében kimutathatósági szint feletti koncentrációt mértek, azonban nem találtak határértéket vagy ajánlati értéket meghaladó koncentrációt. 2018-ban mg/kg nagyságrendben volt mérhető a fitoösztrogének és az emerging („újjonnan megjelenő”) toxinok koncentrációja. A 2016-os extrém meleg és csapadékos nyár kedvező volt a deoxinivalenol és fumonizinek termelődéséhez, míg az alacsonyabb hőmérséklet és szárazabb időszak a zearalenon termelődéséhez járult hozzá 2018-ban.

SUMMARY

Background: Multi-mycotoxin exposure is frequent, since farm animals' feed is made of mixed cereals, which may contain different mycotoxins.

International surveys show that 2 or more mycotoxins are present in feed materials at the same time. Multi-mycotoxin studies have received more attention in the last 15-20 years.

Objectives: The aim of the study was the multi-mycotoxin monitoring survey of Hungarian pig feed samples, based on raw materials harvested in year 2018 and the comparison of results to those in years 2016 and 2017.

Materials and Methods: In the frame of the study, concentrations of more than 800 mycotoxins and mycotoxin metabolites were determined from swine complete feed samples (representing feed for gilts, fattening pigs, pregnant and lactating sows). The analysis was performed with a validated LC-MS/MS method.

Results and Discussion: For 31 metabolites detectable concentration values were attained, while the regulation limits or recommended values (2006/576/EC; 574/2011/EU; 2013/165/EU) were not exceeded in any of the cases. In general, it can be established that samples from the year 2016 showed significantly higher *Fusarium* toxin contamination, as compared to the samples collected in years 2017 or 2018. The higher mycotoxin level might be attributable to the extreme weather typical for 2016, as compared to 2017 and 2018, based on the data of Hungarian Meteorological Service.

In 2018, the concentrations of phytoestrogens and emerging toxins were measurable in the order of mg / kg. A similar trend to our own results can be observed in the European-level annual surveys, which showed a high percentage of DON and fumonisins in 2016, while their rates were much lower in 2017 and 2018.

Such a detailed monitoring study, taking more than 30 mycotoxins into consideration in case of the feed of most important meat-producing animal species has not yet been conducted in Hungary. Data have been compared to those published internationally.

A mikotoxinok a toxintermelő penészgombák kis molekulatömegű, másodlagos anyagcseretermékei, amelyek gyakran szennyezik az állati takarmányokat és a humán élelmiszer-alapanyagokat.

A mikotoxinok a toxintermelő penészgombák kis molekulatömegű, másodlagos anyagcseretermékei

Takarmányok mikotoxin-szennyezettségére az EU ajánlati értékeket, az aflatoxinokra kötelező határértéket határozott meg

A fontosabb mikotoxinok, amelyek az állatok és az ember egészsége szempontjából különös aggodalomra adnak okot az aflatoxinok (AFs), amelyeket az *Aspergillus* fajok termelnek, az *Aspergillus* és *Penicillium* penészek által termelt ochratoxin A (OTA) és a *Fusarium* fajok által termelt fumonizinek (FBs), továbbá a trichotecén toxinok (deoxinivalenol - DON; T-2-toxin) és a zearalenon (ZEN) (11).

Takarmányokra vonatkozóan az Európai Unió Bizottsága számos mikotoxin esetében ajánlati értékeket határozott meg (2006/576/EK; 2013/165/EU), az aflatoxinokra vonatkozóan viszont kötelező határérték van érvényben (574/2011/EU). A leggyakrabban előforduló mikotoxinok a *Fusarium* toxinok, ezek közül is a FB₁, DON és ZEN együttes előfordulása a leggyakoribb (4, 5, 6, 7, 15, 22, 23).

Egy Európában végzett (25), 2004 és 2012 közötti monitoring vizsgálatban leggyakrabban 28 mikotoxin egyidejű előfordulását mutatták ki takarmányokban és takarmány alapanyagokban. Európában évek óta a BIOMIN cég végez világméretű felmérést. A monitoring vizsgálat során 2017-ben azt állapították meg, hogy a Közép-Európából származó takarmány-alapanyagok 75%-ban két vagy több mikotoxin van jelen (6). A begyűjtött mintákban 53, 68 és 69%-os gyakorisággal fordult elő a ZEN, a FB₁ és a DON toxin.

2018-ban szintén egy BIOMIN monitoring szerint (81 936 minta elemzése alapján, amelyek 79 országból származtak), a keresztszennyezettségek (egyidejűleg több mikotoxin jelenléte) gyakoriak voltak. A minták 70%-a több mint egy mikotoxinnal volt szennyezett. 2018-ban Európában 4392 mintát vizsgáltak. Európában a leggyakrabban előforduló mikotoxin a DON volt. A vizsgált takarmányok 78%-a volt szennyezett fumonizinekkal, 71%-a DON-nal, 77%-a ZEN-nel, 12%-a aflatoxinnal. A kukoricaminták 74%-a volt pozitív fumonizinekre, 65%-a DON-ra, 51%-a ZEN-re, míg a gabonák 59%-a DON-nal volt szennyezett és csak 25%-a fumonizinekkal (7).

Dél- és Közép-Amerikában a fumonizinek és a DON előfordulása volt a leggyakoribb. Afrikában szintén a DON-t találták a leggyakrabban előforduló toxinnak. A Közel-Keletről származó kukoricaminták 100%-ban voltak fumonizinnel szennyezettek, átlagos koncentrációjuk 3101 ppb (µg/kg) volt (7).

2019-ben a BIOMIN felmérés szerint, amely során 44 727 vizsgálatot végeztek, a minták 75%-a több mint egy mikotoxint tartalmazott. A leggyakrabban előforduló mikotoxinok a DON és a ZEN voltak, amelyek a minták 64 és 62%-ában fordultak elő (8).

A takarmányok döntő többsége egyszerre több mikotoxint tartalmaz

A mikotoxinok szabályozása már a világ számos pontján előtérbe került, de a szabályozás alapját adó kockázatbecslések a mikotoxinok önálló hatásának vizsgálata alapján történnek. Csupán az utóbbi évtizedben változott meg ez az irányvonal, nevezetesen az együttesen előforduló mikotoxinok és azok kölcsönhatása került a kutatások középpontjába. A mikotoxinok együttes előfordulását számos tanulmány alátámasztja. Európában a FB₁, a DON és a ZEN a leggyakrabban előforduló mikotoxinok. Ennek ellenére a FB₁, a DON és a ZEN együttes hatásáról ismereteink nem olyan széleskörűek, mint az AFB₁ vagy az OTA esetében.

A sertés olyan állatfaj, amely alkalmas a mikotoxinok kutatásokra, mivel pl. a *Fusarium* mikotoxinokkal szembeni érzékenysége tudományosan megalapozott (21).

Az első, sertésekkel kapcsolatos multimikotoxin-tanulmányt fiatal ártányokkal végezték el (16). Az ártányok a takarmánnyal 56 mg/kg FB₁-et és 3,6 mg/kg DON-t fogyasztottak 28 napon keresztül. A mikotoxinok kölcsönhatása additív és nagyobb,

Egyes mikotoxinok bizonyítottan képesek egymás káros hatásait felerősíteni

mint additív volt a legtöbb vizsgálati paraméterre vonatkozóan. DON (3,1 mg/kg) és fumonizinek (6,5 mg/kg FB₁ és 2,0 mg/kg FB₂) együttes hatása 5 napon keresztül sertésben súlyosabb kórszövettani elváltozásokat és nagyobb immunszuppresszív hatást eredményezett, mint a toxinok önállóan (14). Ez utóbbi munkacsoport egy hasonló tanulmányban (azonos toxinkoncentrációt használva) szintén interakciókat írt le, amelyek a szinergistától az antagonistáig terjedt, attól függően, hogy mi volt a vizsgált paraméter (9). A szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy a mikotoxinok kis dóziszú, hosszan tartó felvétele hajlamosíthatja a haszonállatokat a bélben bekövetkező változások miatt a kórokozók által okozott fertőzésekre.

Saját vizsgálatunk során sertések teljes értékű keveréktakarmányának multi-mikotoxin szennyezettségét határoztuk meg, amelyet összehasonlítottunk a már 2018-ban közölt, 2016-os és 2017-es eredményeinkkel (26). Ilyen jellegű monitoring vizsgálat hazai takarmány mintákból ismereteink szerint eddig még nem történt.

SAJÁT VIZSGÁLAT ANYAG ÉS MÓDSZER

MINTÁK SZÁRMAZÁSA, MINTAVÉTEL

A vizsgálat előzménye 2018-ban jelent meg (26). Röviden a közleményben bemutatott minták eredetéről:

A mintákat két különböző mintavételi időpontban gyűjtöttük. Az első mintavételezés a 2016-ban betakarított gabonákból készült takarmányokat, míg a második mintavételezés a 2017-ből származó alapanyagokból gyártott takarmányokat reprezentálja. Ezeket a vizsgálatokat egészítettük ki a 2018-ban ugyanolyan módon végzett mintavételezéssel.

A következő takarmánytípusok mintázását végeztük el: süldő, hízó (65 kg alatt), hízó (65–90 kg), vemhes koca és szoptató koca teljes értékű keveréktakarmányok. Az egyes mintavételi időpontokban csoportonként 4–4 vályúmintát (1 kg/minta) gyűjtöttünk. A minták a Bóly Zrt. majs-ormánypusztai, valamint sátorhely-török-dombi sertéstelepeiről származtak.

MINTAELŐKÉSZÍTÉS, LC-MS/MS PARAMÉTEREK

A mikotoxinok mennyiségi meghatározását LC-MS/MS módszerrel végeztük el. A 2018-as minták előkészítési módja és műszeres vizsgálata hasonló volt, mint a 2016-os és 2017-es minták esetében, amelyet már közöltünk a SZABÓ-FODOR és mtsai 2018-as közleményében (26), az attól való eltérések a következők:

- A retenciós idő megengedett hibája 0,1 min helyett 0,03 min.
- A retenciós ablak szélessége pozitív módban 27 s helyett 40 s, negatív módban pedig 48 s helyett 52 s.

A validált módszerrel egyidejűleg 800 mikotoxin, ill. metabolitjaik meghatározását végeztük el, azonban a nagyrészt kimutatási határ (LOD; limit of detection) értékek alatti származékok bemutatását mellőzzük, így összesen 31 mikotoxin és származék statisztikai értékelését végeztük el.

STATISZTIKAI ÉRTÉKELÉS

Az eredmények matematikai statisztikai kiértékelését SPSS 20.0 (2012) szoftverrel végeztük. Az alapstatisztikai számításokat a „Descriptive Statistics” modullal, míg a varianciaanalízist a „Compare Means/ Oneway ANOVA” opcióval hajtottuk végre.

A LOD alatti értékek esetében LOD/2 értékkel számoltunk. A fő mikotoxinok LOD és a meghatározási határ (*limit of quantification*, LOQ) értékeit az 1. táblázat tartalmazza.

A szerzők süldő, kétféle hízó, vemhes és szoptató koca takarmányokat vizsgáltak

A mikotoxinok mennyiségét meghatározását LC-MS/MS módszerrel végezték el

1. TÁBLÁZAT. A fő mikotoxinok LOD és LOQ értékei**TABLE 1.** LOD and LOQ values of the main mycotoxins

Fő mikotoxinok (µg/kg)	LOD*	LOQ**
Aflatoxin B1	0,30	1,00
Ochratoxin A	0,40	1,33
Zearalenon	0,12	0,40
Fumonizin B1	3,20	10,67
Fumonizin B2	2,40	8,00
Fumonizin B3	2,40	8,00
Fumonizin B4	2,40	8,00
Deoxinivalenol	1,20	4,00
DON-3-glükózid	0,80	2,67
Nivalenol	1,20	4,00
T-2 toxin	0,80	2,67

*limit of detection: kimutatási határ

**limit of quantification: meghatározási határ

EREDMÉNYEK

A takarmánymintákból mintegy 800 mikotoxin, ill. mikotoxin-származék analitikai vizsgálata történt meg

FŐ ÉS EGYÉB MIKOTOXINOK KONCENTRÁCIÓJA A 2018-BAN GYÚJTOTT TAKARMÁNYSZÁRMAZÉKOKBAN

A takarmánymintákból mintegy 800 mikotoxin, ill. mikotoxin-származék analitikai vizsgálata történt meg. Ezek közül azok kerülnek bemutatásra, amelyek LOD feletti koncentrációban tartalmazták az adott mikotoxint (2. és 3. táblázat).

2. TÁBLÁZAT. A fő mikotoxinok (main mycotoxins) koncentrációja az egyes takarmány-típusokban 2018-ban (Átlag ± S.D.)**TABLE 2.** Concentration of the main mycotoxins in the different feed types in 2018 (Mean ± S.D.)

Fő mikotoxinok (µg/kg)	Süldő	Hízó <65 kg	Hízó 65-90 kg	Vemhes koca	Szoptató koca
Zearalenon	6,07 ± 0,75	6,39 ± 0,72	2,47 ± 0,53	16,06 ± 15,70	16,30 ± 16,38
Fumonizin B1	142,81 ± 13,14	194,90 ± 5,08	224,13 ± 28,22	138,13 ± 70,38	262,27 ± 77,64
Fumonizin B2	42,64 ± 6,62	53,68 ± 3,35	56,82 ± 4,40	37,77 ± 13,97	68,39 ± 19,25
FB1+FB2	185,45 ± 15,25	248,58 ± 7,41	280,95 ± 28,44	175,91 ± 84,21	330,66 ± 95,22
Fumonizin B3	23,03 ± 2,91	32,28 ± 1,83	38,53 ± 4,08	24,02 ± 8,84	34,07 ± 9,43
Fumonizin B4	13,80 ± 2,20	21,26 ± 4,04	21,84 ± 2,28	12,83 ± 7,63	24,30 ± 7,42
Deoxinivalenol	30,62 ± 5,41	37,26 ± 1,66	36,88 ± 3,64	25,50 ± 17,18	31,22 ± 12,23
DON-3-glükózid	0,40 ± 0,00	0,40 ± 0,00	0,40 ± 0,00	0,40 ± 0,00	2,16 ± 2,21
Nivalenol	13,90 ± 1,84	17,83 ± 3,50	20,74 ± 5,60	18,14 ± 3,10	14,91 ± 0,55
T-2 toxin	0,40 ± 0,00	0,87 ± 0,54	0,40 ± 0,00	0,40 ± 0,00	0,40 ± 0,00

3. TÁBLÁZAT. Az egyéb mikotoxinok (other mycotoxins) koncentrációja az egyes takarmány-típusokban 2018-ban (Átlag ± S.D.)

TABLE 3. Concentration of the other mycotoxins in the different feed types in 2018 (Mean ± S.D.)

Fő mikotoxinok (µg/kg)		Süldő	Hízó <65 kg	Hízó 65–90 kg	Vemhes koca	Szoptató koca
Fusarium metabolitok	Moniliformin	79,89 ± 1,70	78,02 ± 1,48	86,30 ± 1,91	70,34 ± 38,27	124,81 ± 31,44
	Beauvericin	10,10 ± 0,57	11,06 ± 0,30	11,31 ± 1,23	10,60 ± 4,84	15,06 ± 6,71
	Enniatin A	0,10 ± 0,01	0,19 ± 0,09	0,08 ± 0,01	0,34 ± 0,13	0,31 ± 0,16
	Enniatin A1	1,99 ± 0,32	3,28 ± 0,23	2,75 ± 0,18	7,16 ± 0,89	6,97 ± 2,94
	Enniatin B	3,73 ± 0,20	5,78 ± 1,13	5,79 ± 0,39	7,35 ± 0,43	8,35 ± 2,93
	Enniatin B1	4,97 ± 0,44	7,21 ± 0,71	7,25 ± 0,74	14,79 ± 1,46	14,38 ± 5,48
	Epiequisetin	6,28 ± 0,50	8,45 ± 0,19	3,61 ± 0,25	14,22 ± 10,82	14,72 ± 11,07
	Equisetin	13,86 ± 1,29	12,33 ± 1,20	4,70 ± 0,27	59,30 ± 43,00	60,93 ± 50,12
	Culmorin	85,86 ± 8,01	93,42 ± 3,04	19,04 ± 11,41	349,68 ± 341,51	247,18 ± 191,99
	15-Hidroxiculmorin	25,08 ± 3,21	24,54 ± 2,63	19,05 ± 10,28	34,77 ± 21,20	29,15 ± 11,58
	Apicidin	0,06 ± 0,00	1,92 ± 1,25	1,51 ± 1,00	5,21 ± 1,44	8,79 ± 13,19
Alternaria metabolitok	Tenuazon sav	428,86 ± 36,91	561,90 ± 45,41	681,02 ± 26,29	446,36 ± 20,04	473,14 ± 123,06
	Alternariol	2,09 ± 0,24	3,22 ± 0,70	5,01 ± 1,98	3,89 ± 0,21	3,96 ± 1,84
	Alternariolmetiléter	2,51 ± 0,30	3,25 ± 0,64	4,66 ± 2,19	2,51 ± 0,69	2,70 ± 0,90
	Altersetin	5,67 ± 1,31	15,57 ± 0,79	19,96 ± 2,17	41,13 ± 17,32	39,21 ± 6,95
	Infectopyron	116,56 ± 11,96	241,42 ± 13,97	360,18 ± 28,30	500,91 ± 179,55	433,80 ± 62,34
Penicillium metabolitok	Andrastin A	0,08 ± 0,00	0,08 ± 0,00	0,08 ± 0,00	1,44 ± 1,57	0,98 ± 1,17
	Oxaline	1,14 ± 0,55	3,06 ± 0,34	3,42 ± 0,19	0,95 ± 0,55	0,79 ± 0,60
	Flavoglaucin	2,76 ± 0,14	2,12 ± 0,12	1,97 ± 0,13	2,27 ± 0,91	7,53 ± 8,22
Aspergillus metabolit	Kojin sav	43,20 ± 19,15	33,44 ± 13,54	33,74 ± 14,14	72,16 ± 58,20	92,55 ± 52,39

Az aflatoxin és az ochratoxin A koncentrációja minden vizsgált mintában kimutathatósági szint alatt volt

Az aflatoxin és az ochratoxin A koncentrációja minden vizsgált mintában LOD alatt volt.

A mintákban számos (~50) metabolit esetében detektálható koncentrációt mértünk 2018-ban is, de egyetlen esetben sem találtunk határérték vagy ajánlati érték (2006/576/EK; 574/2011/EU; 2013/165/EU) feletti szennyezettséget.

FŐ MIKOTOXINOK KONCENTRÁCIÓJA A HÁROM ÉV ÖSSZEHASONLÍTÁSÁBAN
Az aflatoxin és az ochratoxin minden takarmánytípusnál LOD alatti értékben volt jelen.

FŐ FUSARIUM MIKOTOXINOK KONCENTRÁCIÓJA A 2016-BAN, 2017-BEN ÉS 2018-BAN BEGYŰJTÖTT MINTÁKBAN, A HÁROM ÉV EREDMÉNYEINEK ÖSSZEHASONLÍTÁSA

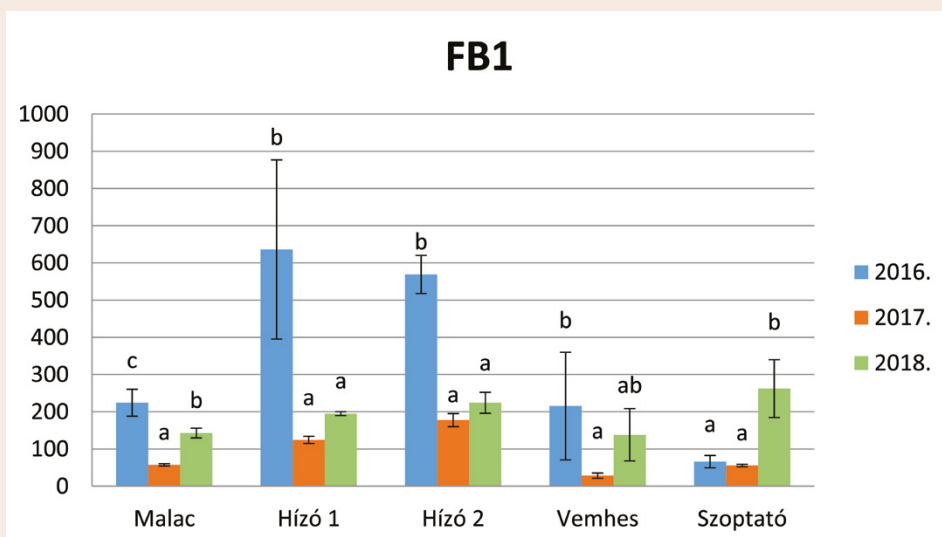
FUMONIZINEK

Az ábrák alapján jól látszik, hogy az FB1- és FB3-toxinok esetében hízó I. (<65 kg), hízó II. (65–90 kg), vemhes koca és malactakarmány esetében a toxinok koncentrációja 2016-ban gyűjtött mintákban szignifikánsan nagyobb, míg a szoptatókocákban a 2018-as évben volt a legnagyobb a toxinok koncentrációja. Az FB2- és FB4-toxinok esetében a hízó I. és II. takarmányokban volt szignifikánsan nagyobb toxinkoncentráció mérhető a 2016-ból származó mintákban, míg a szoptatókocák esetében a 2018-ban gyűjtött minták toxinszennyezettsége volt a legnagyobb (1-4. ábra).

A Fusarium toxinok mennyisége évenként eltérő volt a különböző takarmánytípusokban

1. ÁBRA. A takarmánytípusok Fumonizin B1 koncentrációja ($\mu\text{g}/\text{kg}$) az adott években (átlag \pm SD)

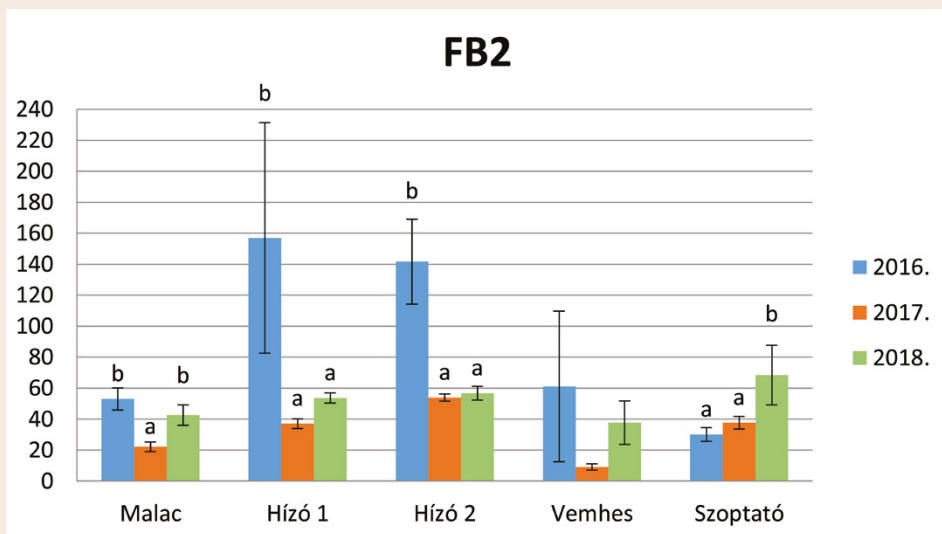
FIGURE 1. Concentration of Fumonisin B1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in the different feed types in the given years (mean \pm SD)



a,b,c: szignifikáns különbség az adott takarmánytípusban az egyes években mért értékek között ($p \leq 0,05$)

2. ÁBRA. A takarmánytípusok Fumonizin B2 koncentrációja ($\mu\text{g}/\text{kg}$) az adott években (átlag \pm SD)

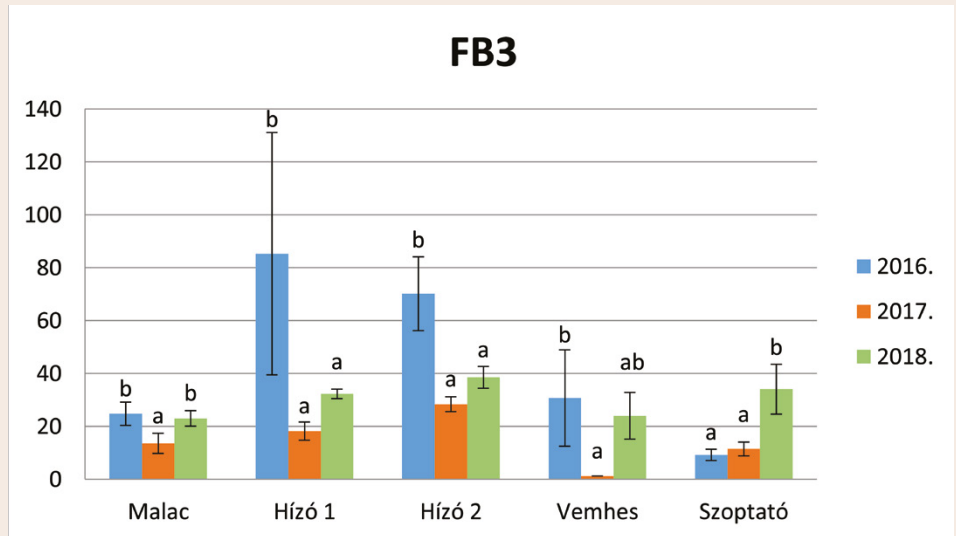
FIGURE 2. Concentration of Fumonisin B2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in the different feed types in the given years (mean \pm SD)



a, b: szignifikáns különbség az adott takarmánytípusban az egyes években mért értékek között ($p \leq 0,05$)

3. ÁBRA. A takarmány-típusok Fumonizin B3 koncentrációja ($\mu\text{g}/\text{kg}$) az adott években (átlag \pm SD)

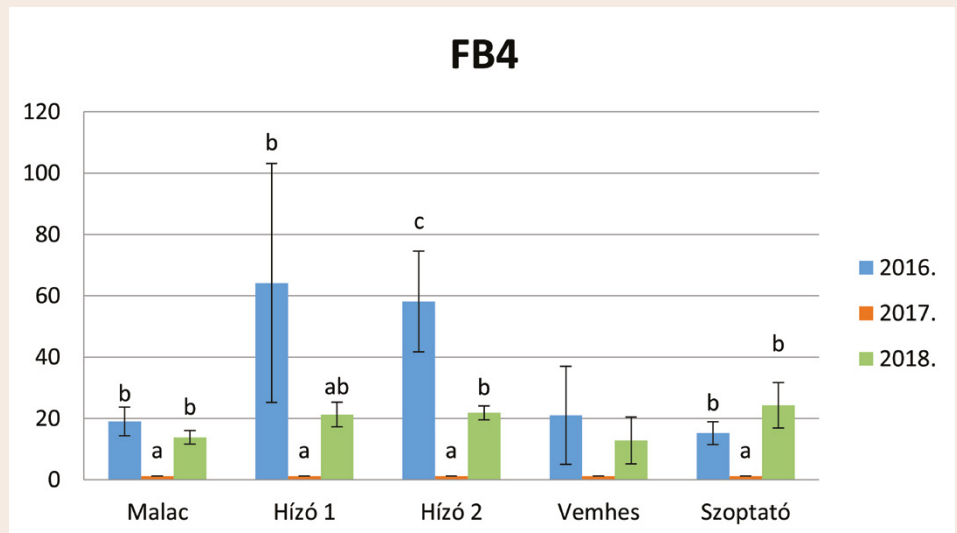
FIGURE 3. Concentration of Fumonisin B3 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in the different feed types in the given years (mean \pm SD)



a,b: szignifikáns különbség az adott takarmánytípusban az egyes években mért értékek között ($p \leq 0,05$)

4. ÁBRA. A takarmány-típusok Fumonizin B4 koncentrációja ($\mu\text{g}/\text{kg}$) az adott években (átlag \pm SD)

FIGURE 4. Concentration of Fumonisin B4 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in the different feed types in the given years (mean \pm SD)



a,b,c: szignifikáns különbség az adott takarmánytípusban az egyes években mért értékek között ($p \leq 0,05$)

A DON-szennyezettség 2016-ban volt a legnagyobb

A zearalenon-toxin értékei nagy szórást mutattak

T-2-toxin esetében a legszennyezettebb minták 2016-ból kerültek ki

DEOXINIVALENOL

Deoxinivalenol esetében minden takarmánytípusnál a 2016-ban gyűjtött minták toxinszennyezettsége volt szignifikánsan a legnagyobb és a 2018-as évben a legkisebb (5. ábra).

ZEARALENON

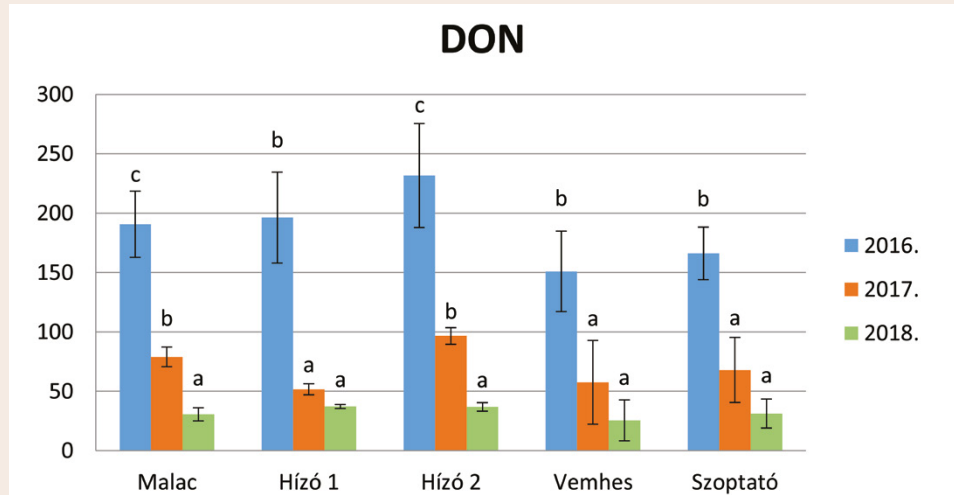
A zearalenon-toxinra jellemző volt, hogy értéke nagy szórást mutatott a vemheskoca- és a szoptatókocacatáp esetében is. A hízó II-es táp esetében a toxin koncentrációja a 2016-os évben, míg a malactáp esetében a 2018-as évben volt szignifikánsan a legnagyobb (6. ábra).

T-2-TOXIN

T-2-toxin esetében – bár statisztikailag ez nem minden takarmánytípusban volt igazolható –, de a legszennyezettebb minták 2016-ból kerültek ki (7. ábra).

5. ÁBRA. A takarmány-típusok deoxinivalenol koncentrációja ($\mu\text{g}/\text{kg}$) az adott években (átlag \pm SD)

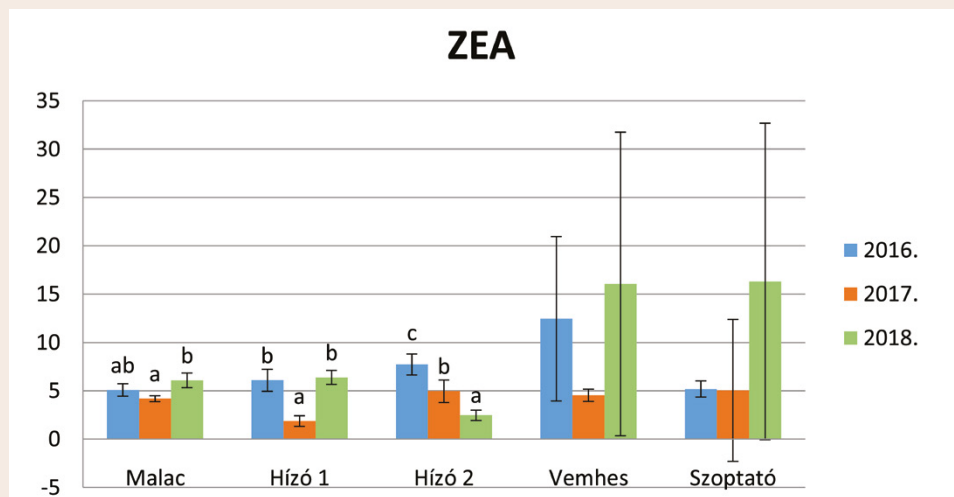
FIGURE 5. Concentration of Deoxynivalenol ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in the different feed types in the given years (mean \pm SD)



a,b,c: szignifikáns különbség az adott takarmánytípusban az egyes években mért értékek között ($p \leq 0,05$)

6. ÁBRA. A takarmány-típusok zearalenon koncentrációja ($\mu\text{g}/\text{kg}$) az adott években (átlag \pm SD)

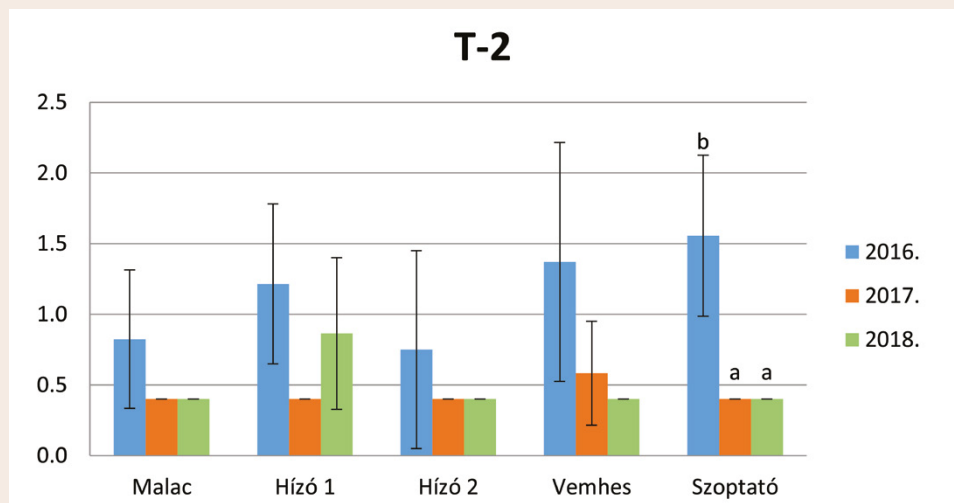
FIGURE 6. Concentration of Zearalenone ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in the different feed types in the given years (mean \pm SD)



a,b,c: szignifikáns különbség az adott takarmánytípusban az egyes években mért értékek között ($p \leq 0,05$)

7. ÁBRA. A takarmány-típusok T-2 toxin koncentrációja ($\mu\text{g}/\text{kg}$) az adott években (átlag \pm SD)

FIGURE 7. Concentration of T-2 toxin ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in the different feed types in the given years (mean \pm SD)



a,b: szignifikáns különbség az adott takarmánytípusban az egyes években mért értékek között ($p \leq 0,05$)

Az egyéb mikotoxinok esetében is a legnagyobb értékeket a 2016-ban begyűjtött minták mutatták

A fitoösztrogének mennyisége 2018-ban volt a legnagyobb

EGYÉB MIKOTOXINOK

Az egyéb mikotoxinok (*Fusarium*-, *Alternaria*-, *Penicillium*-, *Aspergillus*-metabolitok) esetében is a legnagyobb értékeket a 2016-ban begyűjtött minták mutatták. 2016-ban a siccanol, 2018-ban pedig a fitoösztrogének (phytoestrogens) koncentrációja volt kimagaslóan nagy (mg/kg tartományban volt mérhető). Mindegyik takarmánytípusban a tenuazonsav és az infectopyron koncentrációja (*Alternaria*-metabolitok) volt kiemelkedően nagy a 2018-as mintákban. A hízó I. és II. takarmányokban pedig a moniliformin koncentrációja (*Fusarium*-származék, emerging toxin) volt nagyobb a 2016-os évben.

A fitoösztrogének közül 7 féle toxin (daidzein, daidzin, genistein, genistin, glycitein, glycitin, biochanin) meghatározása történt meg. A fitoösztrogének csoportjába tartozó származékokat szinte mindegyik takarmány esetében mg/kg nagyságrendben mértük. A legtöbb fitoösztrogén a flavonoidok osztályába tartozik, amelyeket szerkezetileg C6C3C6 szénváz jellemez.

A fitoösztrogének meglehetősen nagy koncentrációja található sok étrendben, különösen Ázsiában, ahol az étrend nagy mennyiségben tartalmaz szóját. Más fitoösztrogének megtalálhatók a gyümölcsökben, bogyókban és zöldségekben. Feltételezték, hogy az étrendi fitoösztrogének szerepet játszhatnak az ösztrogénnel kapcsolatos daganatos elváltozások, mint pl. mellrák, prosztaták, és kisebb mértékben endometrium- és hererák megelőzésében. A lehetséges káros hatásokat azonban alig értékelték (24).

A szója-izoflavon-expozíció bejelentett biológiai hatásai között szerepelnek a potenciális jótékony egészségügyi hatások (pl. a menopauza tüneteinek enyhülése, az osteoporosis enyhítése), valamint az emlőcarcinogenezist befolyásoló szintetikus ösztrogénekhez hasonló potenciális káros hatások (13).

A *Fusarium*-metabolitok közül az ún. emerging mikotoxinok (moniliformin, beauvericin, enniatin és fuzarinsav) koncentrációja is 0,1–0,2 mg/kg nagyságrendben volt mérhető. A toxikológiai adatok hiányosak az emerging toxinokkal kapcsolatban, ami megnehezíti az emberek és állatok potenciális egészségügyi kockázatoktól való védelmére szolgáló rendeletek és maximális tolerálható határértékek meghatározását.

Az „emerging” mikotoxinok fogalmát gyakran használják manapság bizonyos gombametabolitokra, habár nem pontosan tisztázott ez a kategória. Az első ezzel kapcsolatos közleményben (2008) *Fusarium*-metabolitokként említették a fusaproliferint, beauvericint, enniatinokat és a moniliformint (17). Később már olyan mikotoxinokként definiálták ezeket a vegyületeket, „amelyeket nem rutinszerűen határoznak meg és törvényileg sem szabályozzák a megengedhető koncentrációjukat takarmányokban vagy élelmiszerekben; előfordulásuknak bizonyítéka azonban gyorsan növekszik.”(27). E meghatározás szerint sokkal több ismert (vagy legalábbis feltételezett) toxicitással rendelkező gombametabolit tartozik az emerging mikotoxinok kategóriájába. Számos tanulmány eredménye szerint az enniatinok *in vivo* toxicitása kicsi (17).

A beauvericin toxicitását és farmakológiai hatását egérben és baromfiban vizsgálták. A napi 5 mg/ttkg i.p. (intraperitoneális, hasüregben keresztüli) adagolás 9 napon keresztül nem befolyásolta a testtömeget, takarmányfelvételt és az egerek viselkedését (18). Amikor a beauvericin eloszlását vizsgálták meg a különféle szövetekben, a legnagyobb koncentrációt a májban és a zsírszövetben detektálták, ami arra utal, hogy a vegyület lipofil tulajdonságai miatt felhalmozódik a zsírtartalmú szövetekben. Átjut továbbá a vér-agy gáton is egerekben (18).

A moniliforminra legérzékenyebb állatok a baromfi fajok közé tartoznak és minden vizsgált állatban a célszerv a szív volt (10).

Számos tanulmány kimutatta a fuzarinsav neurokémiai hatását. Bizonyították a fuzarinsav hipotenzív hatását embereken, nyulakban, patkányokban,

macskákban és kutyákban, amely a dopamin- β -hidroxiláz gátlásán alapult. Azt is kimutatták, hogy a fusarinsav megváltoztatja az agyi és gerjesztő neurotranszmittereket patkányokban. Az orális adagolás (200 mg/ttkg) sertésekben neurokémiai változásokat és hányást okozott (10).

A 2016-ból származó minták toxinszennyezettsége általában nagyobb volt, mint a 2017-ben és 2018-ban gyűjtött mintáké

2016 nyara igen csapadékos volt, különösen a július hónap

A TOXINSZENNYEZETTSÉG ÉS AZ ADOTT ÉV IDŐJÁRÁSÁNAK ÖSSZEFÜGGÉSEI

A 2016-ból származó minták toxinszennyezettsége általában nagyobb volt, mint a 2017-ben és 2018-ban gyűjtött mintáké. Ez a jelenség nagy valószínűséggel az adott évre (2016) jellemző szélsőséges időjárásra vezethető vissza.

Az Országos Meteorológiai Szolgálat adatai alapján (28) 2016 nyarának hőmérséklete 0,5 °C-kal meghaladta az 1981–2010-es átlagot. Összességében 2016 nyara igen csapadékos volt, különösen a július hónap. A 2016-os ősz is melegebb volt a szokásosnál. Az évszak emellett csapadékosabbnak is bizonyult a sokéves átlagnál.

2017-ben a nyár melegebb és szárazabb volt a sokéves átlagnál. Az évszak középhőmérséklete országos átlagban 22 °C volt, amely 1,7 fokkal haladta meg a 1981–2010 közötti időszak sokéves átlagértékét.

2018-ban a nyári hónapok átlagában az ország legnagyobb részén 21–23 °C között alakult a középhőmérséklet. Országos átlagban az évszak középhőmérséklete 21,8 °C, amely 1,6 °C-kal meghaladja az 1981–2010-es évek értékeinek átlagát. Mindegyik nyári hónap jelentősen melegebbnek bizonyult a sokévi átlagnál. Míg június 1,4 °C-kal, az augusztus az 1981–2010-es sokévi átlagnál több mint két fokkal (2,6 °C) volt melegebb, míg júliusban a pozitív anomália 1 °C alatt maradt (0,7 °C). Összességében 2018 nyarán átlagos mennyiségű csapadék hullott. A nyári hónapok csapadékösszege 201,6 mm volt, ami a sokévi átlag 102%-a.

Országos átlagban 2018-ban az ősz középhőmérséklete 12,3 °C volt. A 2018-as ősz középhőmérséklete az 1981–2010-es átlag felett alakult. A 2018-as ősz országos viszonylatban szárazabb volt az átlagosnál. A legtöbb csapadék a Keszthelyi-hegység tágabb környezetében hullott, 210 mm-t meghaladó összeggel. Ezen kívül a Dunántúli-középhegység és az Alpokalja területén jelentkezett még nagyobb érték (180–210 mm). A síkvidéki területeken jellemzően 90–150 mm-t mértek (28). A vizsgált minták Majs-Ormánypusztáról, ill. Sátorhely-Törökdombról származnak, amelyek a déli határ közelében a Duna-Dráva Nemzeti Park melletti síkvidéki területen található.

2018-ban a 2017-hez hasonló, kevésbé eltérő időjárási viszonyok a 2017-hez hasonló szennyezettséget eredményezett, kivéve a FB1-, a FB2- és a FB3-toxinokat, ill. a zearalenon koncentrációját, ahol a szoptató koca tápban 2018-ban lényegesen nagyobb volt a koncentrációjuk. 2017-ben a receptúrák átlagosan 60% kalászos gabonát, 12% kukoricát és 18% ipari mellékterméket tartalmaztak. 2018-ban ezzel szemben a kalászos gabona hányada 26%, a kukorica 42%, a melléktermékhányad pedig 24% volt. Ezek alapján egyértelmű, hogy a receptúrák között lényeges eltérések voltak 2017-es és 2018-as években, amelyek a kapott eredményre is hatással lehettek.

A szántóföldi penészgombák szaporodásához a főbb környezeti feltételek (20–25 °C és 30–32% nedvességtartalom) a mérsékelt éghajlati övbe tartozó országokban, így Magyarországon is adóttak a betakarítás előtti időszakban. A mennyiségi élelmiszer-előállítás globális problémájával, a termőföld folyamatos csökkenésével a fusariotoxikózis kockázata is megnövekedett. A mikotoxinok termelődését számos tényező befolyásolja, többek között a növény genetikai adottságai, a gombaspóra-szennyezettségnek való kitettség, az időjárási viszonyok és klimatikus körülmények, a növénytermesztési módszerek, a kártevők jelenléte, a növényápolás, a betakarítási módszerek és a fungicid szerek használata (22).

A 2016-os extrém meleg és csapadékos nyár a DON és fumonizinek, míg az alacsonyabb hőmérséklet és szárazabb időszak a ZEN termelődéséhez járult hozzá 2018-ban

Kutatócsoportunk szakmai tapasztalata alapján a klimatikus eltérés nem egyformán hat az egyes *Fusarium*-toxinek termelődésére. Jól reprezentálja ezt, hogy laboratóriumi körülmények között is a magas páratartalom mellett a hőmérsékletnek van a legnagyobb szerepe a termelődésben. Toxintermelő *Fusarium graminearum* törzsek képesek DON-t és ZEN-t is termelni, azonban míg a DON 28 °C-os, a ZEN 15 °C-os inkubációs hőmérsékleten termelődik. A fumonizinek termelődéséhez az optimális hőmérséklet 25 °C, azonban a *Fusarium sporotrichoides* gombafajok a T-2-toxint 10 °C-on termelik. A 2016-os extrém meleg és csapadékos nyár kedvező volt a DON és fumonizinek termelődéséhez, míg az alacsonyabb hőmérséklet és szárazabb időszak a ZEN termelődéséhez járult hozzá 2018-ban.

MEGVITATÁS

A 2016-ból, 2017-ből és 2018-ból származó sertéstakarmány-mintákból több száz mikotoxin, ill. mikotoxin-származék koncentrációjának meghatározása történt meg a felmérés során.

Egyetlen esetben sem találtak határérték vagy ajánlati érték feletti koncentrációt

A mintákban a legtöbb mikotoxin-metabolit esetében kimutathatósági határ feletti koncentrációt határoztunk meg, bár egyetlen esetben sem találtunk határérték vagy ajánlati érték (2006/576/EK; 574/2011/EU; 2013/165/EU) feletti koncentrációt.

Összességében megállapítható volt, hogy 2016 nyara volt a legmelegebb és a legcsapadékosabb a három év közül, amely kedvező volt a toxintermelő penészgombák számára, így az ebből az évből származó takarmányminták voltak a legszennyezettebbek.

A fő mikotoxinok (main mycotoxins) vonatkozásában az egyik releváns adatforrás a GUBER-DORNINGER és mtsai 2019-ben készült világméretű felmérése (12) alapján készült közlemény.

A munkacsoport takarmányok és takarmány alapanyagok aflatoxin B1, zearalenon, fumonizin, ochratoxin A, deoxynivalenol és T-2 toxin koncentrációját vizsgálta 74 821 minta alapján, amelyek 100 különböző országból származtak 2008 és 2017 közötti időszakban.

Összességében a minták 88%-a legalább egy mikotoxinnal szennyezett volt.

Az Európai Unió országaiban a minták legnagyobb részéről elmondható, hogy nem lépték túl a takarmányokra vonatkozó ajánlati értékek maximális szintjét és a határértéket. Viszont a Dél-Ázsiából származó minták 41,1%-a, az Afrikából származó minták 38,5%-a, a Nyugat-Ázsiából származó minták 20,9%-a meghaladta az aflatoxin B1 maximális szintjét (20 µg/kg).

A minták 64%-a több, mint két mikotoxinnal volt szennyezett. A leggyakrabban együttesen előforduló mikotoxin kombinációk a DON-ZEN-FBs, ill. a FBs-AFB1 voltak.

Közép-Európában a minták 2,6%-a határérték (5 µg/kg) felett tartalmazott AFB1-toxint, 1,3%-a lépte túl a határértéket FB1-re vonatkozóan (5000 µg/kg), 13%-a a ZEN-határértéket (100 µg/kg) lépte túl, 20,4%-a a DON-határértéket (900 µg/kg), míg csak 0,3%-a a mintáknak határérték felett volt szennyezett OTA-val. Ebben a régióban a vizsgált alapanyagok 69,8%-a DON-toxinnal, 30,7%-a T-2-toxinnal, 45%-a ZEN-nel, 43,2%-a FB1-el volt szennyezett.

A saját eredményeinkhez hasonló tendenciát lehet felfedezni a BIOMIN felmérések esetében is. Sertéstakarmány-alapanyagokban (kukorica, búza, árpa, szója) 68-77%-ban fordult elő DON, kukorica alapanyagban 73%-ban jelentek meg a fumonizinek 2016-ban Európában (5). Ettől eltérő módon Közép-Európában 2017-ben és 2018-ban csak a minták kb. 60%-a volt szennyezett DON-nal és csak 39%-a tartalmazott fumonizineket (6,7).

Magyarországon ilyen jellegű, átfogó, 3 évet felölelő, több száz mikotoxinra kiterjedő és a legfontosabb hústermelő gazdasági állatfaj, a sertés takarmányát érintő monitoring vizsgálat ismereteink szerint eddig még nem történt.

A vizsgálat folytatásában a szerzők tervezik felmérő vizsgálataikat 2019-ből származó mintákon is elvégezni.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kutatást a Magyar Tudományos Akadémia Támogatott Kutatócsoportok Irodája (MTA KE SZIE „Mikotoxinok az Élelmiszerláncban” Kutatócsoport), a GINOP-2.2.1-16-2015-00021 és az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005 projekt támogatta. A takarmány mintákat a Bólyi Mezőgazdasági Termelő és Kereskedelmi Zrt. szolgáltatta.

IRODALOM

1. A Bizottság Ajánlása (2006. augusztus 17.) a deoxinivalenol, a zearalenon, az ochratoxin-A, a T-2, a HT-2 és a fumonizinek állati takarmányozásra szánt termékekben való előfordulásáról (2006/576/EK). Az Európai Unió Hivatalos Lapja L 229/7, 2006.8.23.
2. A Bizottság 574/2011/EU rendelete (2011. június 16.) a 2002/32/EK európai parlamenti és tanácsi irányelv I. mellékletének a nitrit, a melamin és az *Ambrosia* spp. maximális szintjének, valamint bizonyos kokcidiosztatikumok és hisztomonosztatikumok átvitelének tekintetében történő módosításáról, továbbá az irányelv I. és II. mellékletének egységes szerkezetbe foglalásáról. Az Európai Unió Hivatalos Lapja L 159/7, 2011.6.17.
3. A Bizottság Ajánlása (2013. március 27.) a T-2 és a HT-2 toxin gabonafélékben és gabonatermékekben való jelenlétéről (2013/165/EU). Az Európai Unió Hivatalos Lapja L 91/12, 2013.4.3.
4. BIOMIN Mycotoxin Survey, (2015): BIOMIN Holding GmbH, Getzersdorf, Austria. Internet document, URL: [http://info.biomin.net/acton/attachment/14109/f-018d/1/-/-/1-0009/1-0009/MTX_Report2015_4S_EN_0316_SMS.pdf].
5. BIOMIN Mycotoxin Survey, (2016): BIOMIN Holding GmbH, Getzersdorf, Austria. Internet document, URL: [https://info.biomin.net/acton/attachment/14109/f-0463/1/-/-/1-0009/1-0009/MAG_MTX-surveyReport_2016_EN_0117_PKO.pdf].
6. BIOMIN Mycotoxin Survey, (2017): BIOMIN Holding GmbH, Getzersdorf, Austria. Internet document, URL: https://info.biomin.net/acton/attachment/14109/f-0664/1/-/-/1-0009/1-0009:6993/REP_MTXsurvey_Quater1-3_2017_EN_1017.pdf.
7. BIOMIN Mycotoxin Survey, (2018): BIOMIN Holding GmbH, Getzersdorf, Austria. Internet document, https://www.biomin.net/solutions/mycotoxin-survey/
8. BIOMIN Mycotoxin Survey, (2019): BIOMIN Holding GmbH, Getzersdorf, Austria. Internet document, https://www2.biomin.net/hu/cikkek/biomin-mycotoxin-survey-h1-2019-results/
9. BRACARENSE, A. P. F. L. – LUCIOLI, J. et al.: Chronic ingestion of deoxynivalenol and fumonisin, alone or in interaction, induces morphological and immunological changes in the intestine of piglets. *Brit. J. Nutr.* 2012. 107. 1776–1786.
10. BRAUN, D. – EZEKIEL, C. N. et al.: Monitoring Early Life Mycotoxin Exposures via LC-MS/MS Breast Milk Analysis. *Anal. Chem.*, 2018. 90. 14569–14577.
11. CAST, 2003. Council for Agricultural Science and Technology (CAST), 2003. Mycotoxins, Risks in Plant, Animal, and Human Systems, Ames, IA.
12. DORNINGER, C. – JENKINS, T. – SCHATZMAYR, G.: Global Mycotoxin Occurrence in Feed: A Ten-Year Survey. *Toxins (Basel)*. 2019. 11. 375.
13. EFSA 2015 Risk assessment for peri- and post-menopausal women taking food supplements containing isolated isoflavones *EFSA J.*, 2015. 13. 1–342.
14. GRENIER, B. – OSWALD, I. P.: Mycotoxin co-contamination of food and feed: meta-analysis of publications describing toxicological interactions. *World Mycotoxin J.*, 2011. 4. 285–313.
15. GRIESSLER, K. – RODRIGUES, I. et al.: Occurrence of mycotoxins in Southern Europe. *World Mycotoxin J.*, 2010. 3. 301–309.
16. HARVEY, R. B. – EDRINGTON, T. S. et al.: Effects of dietary fumonisin B₁-containing culture material, deoxynivalenol-contaminated wheat, or their combination on growing barrows. *Am. J. Vet. Res.*, 1996. 57. 1790–1794.
17. JESTOI, M.: Emerging Fusarium-mycotoxins fusaproliferin, beauvericin, enniatins, and moniliformin – A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2008. 48. 21–49.

18. KRŠKA, R. – SCHUBERT-ULLRICH, P. et al.: Mycotoxin analysis: An update. *Food Addit. Contam. Part A.*, 2008. 25. 152–163.
19. MALACHOVÁ, A. – SÜLYÖK, M. et al.: Optimization and validation of a quantitative liquid chromatography–tandem mass spectrometric method covering 295 bacterial and fungal metabolites including all regulated mycotoxins in four model food matrices. *Journal of Chromatography A.*, 2014. 1362. 145–156.
20. MONBALIU, S. –VAN POUCKE, C. et al.: Occurrence of Mycotoxins in Feed as Analyzed by a Multi-Mycotoxin LC-MS/MS Method. *J. Agric. Food Chem.*, 2010. 58. 66–71.
21. PIERRON, A. – ALASSANE-KPEMBI, I. – OSWALD, I. P.: Impact of two mycotoxins deoxynivalenol and fumonisin on pig intestinal health. *Porc. Health Manag.*, 2016. 2. 21.
22. RODRIGUES, I. – NAEHRER, K.: A Three-Year Survey on the Worldwide Occurrence of Mycotoxins in Feedstuffs and Feed. *Toxins*, 2012. 4. 663–675.
23. SMITH, M. C. – MADEC, S. et al.: Natural Co-occurrence of Mycotoxins in Foods and Feeds and Their *in vitro* Combined Toxicological effects. *Toxins*. 2016. 8. 94.
24. STOPPER, H. – SCHMITT, E. – KOBRAS, K.: Genotoxicity of phytoestrogens. *Mutation Research*, 2005. 574. 139–155.
25. STREIT, E. – SCHWAB, C. et al.: Multi-mycotoxin screening reveals the occurrence of 139 different secondary metabolites in feed and feed ingredients. *Toxins*. 2013. 5. 504–523.
26. SZABÓ-FODOR J. – BÓTA B. – MIHUCZ G. – SÜLYÖK M. – TENKE J. – KOVÁCS M.: Hazai sertéstakarmányok multi-mikotoxin szennyezettségének felmérése. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2018. 140. 349–360.
27. VACLAVIKOVA, M. – MALACHOVA, A. et al.: ‘Emerging’ mycotoxins in cereals processing chains: changes of enniatins during beer and bread making. *Food Chem.*, 2013. 136. 750–757.
28. http://www.met.hu/eghajlat/magyarorszag_eghajlata/eghajlati_visszatekinto/elmult_evszakok_idojarasa/

Közlésre érk.: 2020. szept. 1.