

Az élelmiszerbiztonság analitikai kérdései, különös tekintettel a klímaváltozásra

Farkas József^{1,2} és Salgó András³

¹Központi Élelmiszer-tudományi Kutató Intézet

²Budapesti Corvinus Egyetem Élelmiszer-tudományi Kara

³Budapesti Műszaki Egyetem Vegyészmérnöki és Biomérnöki Kar,
Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszer-tudományi Tanszék

Érkezett: 2008. április 00.

1. Bevezetés

Számos mértékadó grémium (az ENSz Éghajlat-változási Kormányközi Testülete, IPCC; a Meteorológiai Világszervezet, WMO; az Országos Meteorológiai Szolgálat, OMSz, a hazai VAHAVA: Változás-Hatás-Válaszadás című kutatási program résztvevői és az MTA Környezettudományi Elnöki Bizottságának Felkészülés a Klímaváltozásra Albizottsága) egybehangzó megállapításai szerint klímaváltozás (globális felmelegedés, időjárási szélsőségek fokozott előfordulása) van folyamatban, ami a XXI. század talán legnagyobb kihívása. Ezek a Kárpát-medencében a jelzések szerint fokozottan érvényesülő hatások becsülhetően hátrányos következményekkel járnak a magyar mezőgazdaságra, az élelmezés- és élelmiszer-biztonságra, valamint a humán- és állategészségügyre.

Élelmiszer-gazdaságunk szempontjából a klímaváltozás hazánkra is erősen kiható fő következményei között említhetők a következő, egymással is kölcsönhatásban lévő problémák (Farkas & Beczner, 2009):

- fokozott rovarkártétel;
- az élelmi anyagok és takarmányok várhatóan fokozódó mikrobás szennyeződése;
- a zoonózisok és más, élelmiszerekkel közvetíthető fertőzések és megbetegedések fokozott terjedése;
- a termények rövidebb „post harvest” tárolhatósága;
- az élelmiszer-ellátási hálózatban a hűtlánc fenntartási feladatok és gondok növekedése;

* Magyar Kémiai Folyóirat, **115** (2009) 1, 10-13. megjelent cikk alapján

- az erőteljesebben terjedő kártevők elleni védekezés érdekében szükséges több peszticid- és állategészségügyi szer használat, ami további környezet-szennyezéssel járhat és kihat az élelmiszer-biztonságra is.

Mind a globalizált élelmiszer-kereskedelemre, mind a hazai élelmiszer-gazdaságra tekintettel az élelmiszer-biztonsági kockázatok között különösen nagy figyelmet érdemel a toxinogén penészgombák által képviselt veszély. Figyelembe véve a legfontosabb toxinogén penészgomba fajokat és toxinjaikat, a hazailag is termesztett gazdasági növények közül a gabonafélék (különösen a kukorica), a fűszerpaprika, egyes gyümölcsök (alma, szőlő) és feldolgozási termékeik alapvető jelentőségűek ilyen szempontból is. Az import termékek között az Európai Unió RASFF rövidítésű gyors riasztási rendszere statisztikájának tanúsága szerint egyes mogyorófélék (pisztácia, földimogyoró), a fűszerek, illetve a kávé- és kakaóbab jelentik a mikotoxin kockázat fő forrásait. Érthető, hogy az EU 6. Keretprogramja részeként létrehozott MoniQA („Monitoring and Quality Assurance in the Food Supply Chain) kiválósági hálózat, aminek a BME ABÉT is tagja, mikotoxin munkacsoporttal is rendelkezik.

Toxinogén penészgombák mindenütt előfordulnak, mert nagy számban képződő konidiumaik révén könnyen terjednek. A klímaváltozással összefüggésben különös figyelmet érdemelnek a penészgombák szaporodását befolyásoló környezeti, ökológiai tényezők és a penészgombák szaporodási törvényszerűségei. A toxinogén penészgombák egy része a terményeket már a learatásuk előtt megtámadja, míg mások csak a tárolás közben. Az aszályok és a rovarkártétel okozta növényi stressz elősegíti a termények mikotoxinokkal való szennyeződésének veszélyét. Az élelmiszerek és takarmányok penészgombákkal való szennyeződésében, penészesedésében, s ezáltal a mikotoxin képzésben pedig meghatározó tényezők az oxigén jelenléte, a hőmérséklet és a nedvesség-viszonyok (a „hozzáférhető” víztartalom: a „vízaktivitás” (Farkas & Beczner, 2009).

A toxinogén mikroszkópikus gombák és toxikus anyagszere-termékeik egyaránt fontosak mikrobiológiai és kémiai élelmiszer-biztonsági szempontból, ezért minél hatékonyabb kimutatásuk/vizsgálatuk az élelmiszer-analitikának egyik fő, XXI. századi kihívása (Várad, 2005). A probléma jelentősége összefügg azzal is, hogy a mikotoxinok sokkal ellenállóbbak antimikrobás hatásokkal, élelmiszer-feldolgozási

műveletekkel szemben, mint maguk az őket képző penészgombák. Ily módon például életképes penészgomba propagulumokat már nem is tartalmazó, illetve a feldolgozási folyamatok következtében penészesnek nem is látszó anyagok is toxin tartalmúak lehetnek. Így noha a mikotoxinok jelenléte az élelmiszerekben és takarmányokban az azokat fogyasztó emberek és állatok számára nem is érzékelhető, a szervezetet hosszabb időn át, akár kis koncentrációban terhelő mikotoxinok különféle lassan kialakuló, de súlyos és krónikus egészségártalmakat okozhatnak. Ezért véljük fontosnak a XXI. század analitikai kihívásai között elsősorban a mikotoxinok kimutatási módszereinek az áttekintését.

2. A penészgombával, illetve mikotoxinokkal való szennyezettség vizsgálati módszerei

A munkaigényes és hosszadalmas „klasszikus” mikológiai módszerek nem elégítik ki a Bevezetésben irottakból fakadó követelményeket, ezért a törekvés gyors, mégis nagy érzékenységgű, lehetőleg roncsolás-mentes és automatizálható, illetve sok minta vizsgálatát lehetővé tevő eljárások (tovább)fejlesztésére irányul. A teljesség igénye nélkül a következő technikák területéről említhetők a „modern” követelményeknek jobban megfelelő eljárások:

- Impedimetriás módszer a szaporodóképes penészgomba propagulák számának viszonylag gyors becslésére;
- Immunkémiai módszerek (ELISA, MLA);
- Molekulár-biológiai módszerek (PCR, RAPD technikák);
- Kromatográfiás eljárások (GC-MS, LC-MS);
- Kémiai szenzor-sorok (elektronikus orr) penészgombák komplex illóanyagai detektálására;
- Közeli infravörös spektroszkópia (NIRS);
- Optikai hullámvezető fénymódus spektroszkópia (OWLS);
- Nanotechnológiai szenzorok (nano-bioszenzorok, felületi plazmon-oszcilláción alapuló metodikák).

E vizsgálati módszerek jelentős része indirekt eljárás, előzetes kalibrációt igényel, ezért fontos olyan adatfeldolgozási/értékelési eljárások alkalmazása, fejlesztése, amelyek képesek a monitorozáshoz szükséges előrejelző korrelációs modellek alkotásának megalapozására.

A jól bevált hazai kemometriai fejlesztések közül itt említhető a polár kvalifikációs rendszer (PQS) (Kaffka & Seregély, 2002).

Az élelmiszeranalitikai vizsgálatoknak, különösen a mikológiai biztonságosság vizsgálatának azonban az is nagy gondja, hogy a meghatározások használhatóságát nagymértékben befolyásolja a reprezentatív mintavétel nehézsége, tekintettel a szennyezettség igen egyenetlen eloszlására (Ambrus, 2007).

2.1. Penészgomba biomassza kimutatási módszerek

2.1.1. Penészgomba propagulák számának becslése impedimetriás készülékekkel

A mikrobás anyagcsere-aktivitásnak impedancia/konduktancia/kapacitancia mérésén alapuló vizsgálati technikáit egyes országokban a bakteriális élelmiszer-szennyezettség vizsgálatára már az 1980-as évektől rutinszerűen alkalmazzák az élelmiszeriparban. Ilyen célra többféle, kereskedelmi forgalomban kapható műszertípus van, amelyekkel egyidejűleg nagyszámú minta automatikus vizsgálata lehetséges. Ezek a műszerek azt a „detekciós időtartamot” állapítják meg, amelynél a megfelelően szelektív folyékony tápközegbe beoltott mintákban lévő mikroorganizmusok állandó hőmérsékleten végzett inkubáció során a szaporodásuk/anyagcseréjük közben elektromosan töltött kismolekulájú anyagokat képeznek. Ezek koncentrációjának növekedése révén a tenyészetbe merülő elektródok impedancia, konduktancia vagy kapacitancia változást jeleznek. A detekciós időtartam a kezdeti élősejt-számtól függ, de jóval rövidebb, mint a hagyományos tenyésztési technikák során a telepek képzésének időszükséglete (Mohácsi-Farkas et al., 1999). Penészgombák propagulaszámának impedimetriás becslésének a lehetősége is az 1980-as évek óta ismeretes (Jarvis et al., 1983; Williams & Wood, 1986).

2.1.2. Penészgombák kimutatása molekuláris biológiai alapon

A polimeráz láncreakciós (PCR) technika, megfelelő DNS primerek használatával, penészgombák kimutatására is specifikálható, amely holt sejtek kimutatására is alkalmas. A penészgomba biomassza PCR-alapú kimutatása, például az rDNS specifikus amplifikáció révén, alapvető feltétele tehát a megfelelő primerek kiválasztása (Mayer et al., 2003).

2.1.3. Termények és őrlemények penész-biomassza tartalmának gyors becslése NIR spektroszkópiával

Élelmiszer- és takarmány-minták penész-biomassza tartalmának gyors becslésére NIRs modellek kifejlesztése révén is több ígéretes eredményt tartunk számon (pl. Roberts et al., 1991; Kiskó et al., 2002; Kaffka & Seregély, 2002). Penészfertőzött fűszerek (paprika, bors), illetve búzakorpa minták élő és holt penész fertőzöttsége mutatható ki NIR modellek segítségével, ami a gyors osztályozást, fertőzött tételek elkülönítését hatékonyan segítheti.

2.1.4. Penészgombák kimutatása elektronikus orral

Sokan foglalkoznak a különféle penészgomba fajokra vagy nemzetségekre jellemzően képződő illékony komponensek gázkromatográfiás-tömegspektrometriás meghatározásával. A kémiai érzékelő-sorokból összeállított „elektronikus orrok” is alkalmasnak bizonyultak egyszerű és gyors, roncsolás-mentes módszerként az illóanyag-profil mintázatok összehasonlítása alapján penészgombák detektálására és például jó minőségű és penész-szennyezett gabonák megkülönböztetésére (Jonsson et al., 1997; Keshkin & Magan, 2000; Olsson et al., 2000).

2.2. Mikotoxin detektálási módszerek

2.2.1. Klasszikus „kémiai” alapú meghatározások

A vékonyréteg-kromatográfia, a túlnyomásos réteg-kromatográfia, a kapillár elektroforézis és a HPLC technikák fluoreszcenciás vagy tömegszelektív detektálással ma már a mikotoxin analitika klasszikus módszereinek számítanak.

Ezen eljárások anyag- és eszközigénye, valamint az izolálás, tisztítás, elválasztás és detektálás időigénye miatt az analízis költségek nagyok és a mérési gyakoriság erősen korlátozott.

2.2.2. Mikotoxinok detektálásának immunológiai módszerei

Az immunológiai módszerek, például az enzim-kapcsolt immuno-szorbens módszer (ELISA) megfelelő antiszérumok előállítása esetén mind penészgombák, mind toxinok detektálására is alkalmasak. Noha ezek a módszerek robusztusak és érzékenyek, viszonylag lassúak, munkaigényesek és nehezen automatizálhatók.

Az immunkémiai alapú eljárások között intenzíven terjednek az ún. dip-stick és a laterális áramláson alapuló immunkémiai dedikált módszerek, amelyekkel gyors, specifikus választ kaphatunk a toxinok jelenlétéről.

2.2.3. Mikotoxinok detektálása NIR spektroszkópiával

A közeli infravörös spektroszkópiai eljárásokat közel tíz éve próbálják alkalmazni toxinok kvantitatív meghatározására (Dowell et al., 1999; Wicklow et al., 1999 (Patterson & Aberg, 2003; Berardo, 2005). Azonban a detektálhatóságot, illetve annak pontosságát a toxinok alacsony koncentrációja erősen korlátozza. Nagy mintasereggel dolgozó kalibrációs összefüggéseket eddig csak a deoxynivalenol (DON) toxin predikciójára dolgoztak ki gabonák esetében. A különféle típusú toxinok kimutatására kidolgozott kalibrációs modellek legfeljebb tájékoztató adatokat szolgáltatnak az illető toxin jelenlétét illetően.

2.2.4. Mikotoxinok detektálása bioszenzorokkal

Az elmúlt években nagy fejlődés ment végbe a bioszenzor technológiák területén, amelyek biokémiai reakciókat jelátakítóval tesznek mérhetővé, érzékenyek, specifikusak és gyors detektálást biztosítanak.

A legkorszerűbb módszereknek számítanak az optikai hullámvezető fénymódus spektroszkópiát használó (Adányi et al., 2007), valamint a felületi plazmon rezonancián (SPR) (Kroó 2003, Gyurcsányi 2005, 2008) alapuló immunszenzorok és nanoszenzorok.

3. Összefoglaló megjegyzések

Éghajlatunkon a toxinogén *Penicillium* és *Fusarium* penészgomba fajok szaporodásával és toxinképzésével eddig is lehetett/kellett számolni. A klímaváltozással azonban a mi régióinkban is teret nyerhetnek az *Aspergillus* nemzetségbe tartozó toxinképzők is.

További kutatás szükséges a fogyasztók mikotoxinoknak való kitettsége terén, s ezáltal az ilyen típusú élelmiszerbiztonsági kockázat jobb becslésére.

A XXI. századnak az analitikát érintő kihívásai azonban az élelmiszer-analitika fejlődésére is ösztönzően hatnak és a vázlatosan

áttekintett korszerű módszerek az érintett szakterületeken dolgozók interdiszciplináris együttműködése révén a klímaváltozással fokozódó élelmiszerbiztonsági, ellenőrzési problémák mérséklésének vagy elhárításának is a szolgálatába állíthatók.

Különösen roncsolásmentes, reagensmentes, „real time” módszerek alkalmazására és nagy mintaszám vizsgálatára alkalmas módszerek fejlesztésére van szükség.

Hasonlóképpen fontos a környezeti hatásokra kevésbé érzékeny, nem-lineáris kemometriai/modelllezési technikák és ezek felhasználóbarát szoftvereinek a kidolgozása, amelyek az eddiginél hatékonyabb minőségellenőrzést és minőségbiztosítást alapozhatnak meg.

Irodalom

1. Adányi, N., Levkovets, I.A., Rodriguez-Gil, S., Ronald, A., Váradi, M., Szendrő, I. (2007): *Biosensors and Bioelectronics*, **22**, 797-802
2. Ambrus, Á. (2007): *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, 53 (különszám), 5-18
3. Berardo, N., Pisacane, V., Battilani, P., Scandolara, A. Pietri, A., Marocco (2005): *J. Agr. Food Chem.*, **53**, 8128
4. Dowell, F. E., Ram, M. S., Seitz, L. (1999): *Cereal Chemistry*, **76**, (4) 573-576
5. Farkas, J., Beczner (2009): *Klima-21 Füzetek*, No. **56**, 3-17
6. Gyurcsányi, R. *Magyar Kémiai Folyóirat* (2005): **111** (2), 133-142
7. Gyurcsányi, R. (2008): *Trends in Analytical Chemistry*, **27** (7), 627
8. Jarvis, B., Seiler, D. A. L., Ould, A. J. L., Williams, A. P. (1983): *J. Appl. Bacteriology*, **55**, 325-336
9. Jonsson, A., Winqvist, F., Schnürer, J., Sundgren, H., Lundström, I. (1997): *Int. J. Food Microbiol.*, **35**, 187-193
10. Kaffka, K. J., Seregély, Zs. (2002): *Acta Alimentaria*, **31**, 3-20
11. Keshri, G., Magan, N. (2000): *J. Appl. Microbiol.*, **89**, 825-833
12. Kiskó, G., Kaffka, K., Farkas, J. (2000): In: *Infrared Spectroscopy. Proceedings of the 9th International Conference*, P. Y., Eds.; Davies, A. M. L., Giangiacomo, R., pp. 455-461
13. Kroó, N. (2003): *Magyar Tudomány*, **9**, 1096
14. Lin, H. H., Cousin, M. A. (1987): *J. Food Sci.*, **52** (4), 1089-1094

15. Mayer, Z., Bagnara, A., Färber, P., Geisen, R (2003): *Int. J. Food Microbiol.*, **82**, 143-151
16. Mohácsi-Farkas, Cs., Farkas, J., Reichart, O., Sáray, T., Mészáros, L. (1999): In: *Predictive Microbiology Applied to Chilled Food Preservation*, International Inst. of Refrigeration, pp. 237-244
17. Notermans, S., Heuvelman, C. J. (1985): *J. Food Microbiol.* **2**, 247-258
18. Olsson, J., Börjesson, T., Lundstedt, T., Schnürer, J. (2000): *Int. J. Food Microbiol.*, **59**, 167-178
19. Patterson, H., Aberg, L. (2003): *Food Control*, **14**, 229
20. Roberts, C. A., Marquardt, R. R., Fröhlich, A. A., McGraw, R. L., Rotter, G. R., Henning, J.C. (1991): *Cereal Chemistry*, **68** (3), 272-275
21. Váradi, M. (2005): *Magyar Kémiai Folyóirat*, **111** (3), 118-123
22. Wicklow, D., Pearson, T., Brabee, D. (2007): In: *Qualitative (Comparative) Analysis by Near Infrared Spectroscopy*, Corn Dry Milling Conference Proceedings, Eds: Biston, R., Bartiaux-Thill, N., Abstract
23. Williams, A. P., Wood, J. M. (1986): In: *Methods of the Mycological Examination of Foods*. Plenum Press, New York Eds: King, A. D., Pitt, J. I., Beuchat, L. R., Corry, J. F. L., pp. 230-238

Analytical challenges of food safety with particular reference to the climatic change

Abstract

As forecasted by the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) of the UN, the World Meteorological Organization, the Hungarian VAHAVA (Change-Effect-Response) project, as well as the National Climate-Change Strategy accepted by the Hungarian Parliament, the expected climate change in the Carpathian Basin will have unfavourably impacts on the Hungarian agriculture, food security and food safety, causing increasing risks of human and animal health. Particular attention should be given to toxigenic moulds and their toxins. Concerning locally grown agricultural crops, the mycological safety of cereal grains, spice paprika, some fruits (apples and grapes) and their processed products might be increasingly contaminated while pistachia, peanuts, cocoa- and coffee-beans represent the main sources of mycotoxin risks of imported commodities.

Toxigenic moulds and their toxic secondary metabolic products are important from points of view of both microbiological and chemical food safety, thus, their detection/investigation is one of the main challenges of food analysis in the XXIth century. The mycotoxin problem is of particular importance due to the fact that the mycotoxins are much more resistant to effects of food processing than the microscopic moulds generating them. Thereby products which don't contain any more viable mould propagulas may still contain mycotoxins. The presence of low concentrations of mycotoxins in food or feed are not recognizable to the consuming persons and animals, while the accumulation of this toxic compounds in the body could cause long term very serious and chronic health problems. A serious difficulty in controlling this situation is sampling and sample preparation to obtain representative test portions due to the very uneven distribution of mycotoxins in the most frequently contaminated commodities.

Because the time- and labour-intensity of „classical” microbiological and conventional food analytical methods, there is a need for rapid, sensitive, easy-to-use and non-destructive means for detecting moulds and mycotoxins in large number of samples. The paper briefly summarizes analytical methods for determination of mould biomass or detection of mycotoxins in such complex matrices as foods. Such techniques are: impedimetric estimation of mould contamination of food, NIR spectroscopic detection of mouldiness of paprika powder, NIRs estimation of mycotoxins in grains, detection of volatiles of mould-origin by chemical sensor arrays (electronic noses), estimation of various mycotoxins by different high performance chromatographical and immunochemical methods, application of immuno- or nano-sensors utilising the optical waveguide lightmode spectroscopy, or, the surface plasmon resonance method. The correlative instrumental methods must be calibrated first against reference properties and the instrumental data are evaluated with the help of chemometric methods. Related to the last aspect, certain software developments as qualitative classification tools made by Hungarian scientists are pointed out.