

A patulin előfordulása és hatástalanítása az élelmiszerekben I.*

FARKAS JÓZSEFNÉ és SCHREINER ERNŐNÉ

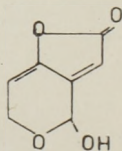
Kertészeti Egyetem Élelmiszerkémiai Tanszéki Csoport, Budapest

Érkezett: 1976 december

A patulin (expansin, clavacin) számos *Aspergillus* és *Penicillium* species anyagcsereterméke. Először, az 1940-es évek elején, mint széles spektrumú antibiotikumra figyeltek fel rá, de sajnos hamar kiderült, hogy számos biológiai rendszerre toxikus hatású.

Fizikai és kémiai tulajdonságai

Szintelen, illetve fehér színű kristályos anyag. Szerves oldószerekben (éterben, kloroformban, benzolban, metilénkloridban, etilacetátban, etanolban) és vízben egyaránt jól oldódik. Szerves oldószerekben hosszú ideig teljesen stabilis marad, metanolos vagy vizes oldatának UV elnyelésében azonban lassú változás figyelhető meg *Pohland* és *Allen* (1). Optikai aktivitást nem mutat. Olvadáspontja 110,5 °C. A spektrum ultraibolya tartományában 275 (*Dauben* és *Weisenborn*, 12, 276 (*Katzmann* et al.), ill. 277 nm-nél (*Pohland* és *Allen* 1) mérték az abszorpciós maximumot. Szerkezetét 1949-ben tisztázta *Woodward* és *Singh* (3). A patulin ezek szerint telítetlen lakton, tapasztalati képlete $C_7H_6O_4$ (mólsúlya 154), szerkezeti képlete:



Amerikai szerzők *Heatley* és *Philpot*, (4); *Scott* és *Somers* (5), a patulint igen termostabilisnak találták. Úgy látszik, hogy az élelmiszerek, főképpen a gyümölcsök savas pH-ja is a stabilitást segíti elő *Lovett* és *Peeler* (6). A patulin toxicitásának megállapítására kiterjedt vizsgálatokat végeztek. Több, mint 75 baktériumnál mutattak ki patulin-érzékenységet (*Ciegler* et al., 7), közöttük van számos humán-patogén (*Chain* et al., 8). Állatkísérletekben kóros elváltozásokat (*Abraham* et al., 9), kistrágsálókon lokális tumort tapasztaltak (*Dickens* és *Jones* 10), a legújabb eredmények azonban karcinogén hatása ellen szólnak (*Frank*, 11).

* A dolgozat a MÉM B. 3. 9. „A kertészeti termékek hőelvonásos tartósításának fejlesztése” c. tervfeladat keretében készült.

A patulin analitikája

A patulinnak a vizsgálati anyagból való *kinyerésére* legáltalánosabban az etilacetátot használják *Pohland* et al. (12); *Scott* és *Kennedy* (13). Gabonából történő extrakciónál acetónitril – víz (9:1) elegyet *Stoloff* et al. (14), vagy acetónitril – hexán (4:1) elegyet *Pohland* és *Allen* (15) is alkalmaztak. Utóbbival más arányban (20:9) töltelékcséntes hentesárut extraháltak *Tauchmann* et al. (16).

Az extrakt zsírtalanítását szükség esetén izo-oktánál vagy hexánál végezték, az egyéb zavaró anyagoktól celite- vagy szilikagél oszlopon tisztították meg a kivonatot.

Az irodalomban leírt *kimutatási módszerek* között találunk gázkromatográfiás *Pohland* (12); *Scott* et al. (17); *Pero* et al. (39); *Suzuki* et al. (40), (41); *Fujimoto* et al. (42), nagynyomású folyadékromatográfiás *Ware* et al. (33) és tömegspektrometriás *Scott* et al. (13) módszert is, de a legtöbb vizsgálatot vékonyrétegekromatográfiával végezték *Pohland* és *Allen* (1); *Scott* és *Kennedy* (13); *Reiss* (18).

A vékonyrétegekromatográfiánál a következő futtatókeveréket alkalmazták:

toluol – etilacetát – hangyasav (50:40:10)

toluol – etilacetát – kloroform (45:35:25)

kloroform – acetón (85:15)

benzol – metanol – ecetsav (100:8:4)

kloroform – metanol (95:5)

A kromatogram értékelését fluoreszcens lemez esetében lehet előhívószert alkalmazása nélkül, ultrabolya fényben végezni, mert a patulin hosszúhullámú UV fényben (366 nm) kéken fluoreszkál, de számos előhívószert is használtak, így a 3-metil-2-benzotialinon-hidrokloridot *Scott* és *Kennedy* (13); a fenilhidrazint *Bullerman* és *Hartung* (19); *Sommer* et al. (20); *Pohland* és *Allen* (15); a dianizidint, ill. klórozott származékát *Meyer* (21).

Fluoreszkáló szilikagélnél a kimutathatóság határa 0,04 mikrogramm patulin/folt, a többi módszernél ez az érték 0,02 – 0,2 mikrogramm.

(A nagy nyomású folyadékkromatográfia vagy gázkromatográfia érzékenysége természetesen lényegesen nagyobb, ng nagyságrendű.)

A kémiai, illetve fizikokémiai módszereken felül számos biológiai módszert is leírtak a patulin kimutatására. A kémiai vizsgálatok ezekkel kiegészítve nyernek csak döntő bizonyítékot. Ilyenek a csirke embriópróba, az egerekkel, napos kacsákkal és a különféle baktériumokkal (*B. subtilis*, *Escherichia coli*, *S. aureus*, *B. megaterium* végeztett toxicitás vizsgálatok *Verret* et al. (22) *Stott* és *Bullerman* (23).

Az élelmiszerek fertőzése patulint termelő mikroorganizmusokkal

Élelmiszerekben és baromfitápanyagban egyaránt előfordulnak ilyen toxint termelő penészek. Így lisztben *A. terreus*, *A. clavatus* és *P. urticae* találtak, gabonamagvagról és hüvelyesekről ezeken kívül *P. expansum*ot izoláltak *Graves* és *Hesseltine* (24). *Atkinson* (25) szerint a patulint termelő penicilliumok főleg a gyümölcsökön és zöldségféléken találhatók meg. A *P. expansum* a leggyakoribb romlást okozó penész. Héjas hikoridióról, sárgabarackról, vadalmáról és datolyaszilváról *Sommer* és munkatársai (20), körtéről, szőlőről és almáról *Harwig* és munkatársai (26) izoláltak *P. expansum*ot. A *Byssochlamys* specíesek a gyümölcslevek gyakori romlását okozzák *Yates* (27). Újabb találtak száraz kolbászon is *P. expansum*ot, *P. urticae* és *P. melinii* *Mintzloff* és *Leistner* (28) *P. expansum*ot füstölt sonkán *WU* et al. (29) és egyéb húsárun.

Az izolált gombáknak azonban csak kis hányada termelt laboratóriumi körülmények között patulint. A toxin termelés feltételeit számos kutató tanulmányozta. Különböző táptalajokon, 24–28 °C inkubációs hőmérsékleten, 8–14 nap alatt az egyes törzsek a legkülönbözőbb mennyiségű toxin képzésére voltak képesek (0,02–2,8 mg/cm³), a közleményekből összefoglaló táblázatot *Stott és Bullerman* (23) készített. Több *Aspergillus* és *Penicillium* fajta laboratóriumi körülmények között kis hőmérsékleten is képes volt patulin termelésre, így *Lovett* (30) közleménye szerint 1,7 °C-on 100 nap alatt 400 mikrogramm patulin képződött a tápközeg 1 cm³-ében. *Frank* (31) is spontán romlott, hűtőszekrényben tárolt almale toxintartalmáról számol be.

A kutatások alapján úgy látszik, hogy patulin inkább a nagyobb szénhidráttartalmú táptalajokban keletkezik, mint a nagy fehérjetartalmúakban és a szénhidrátok közül is a glükóz a legalkalmasabb a *Penicillium*ok számára.

A patulint termelő penészek természetes körülmények közötti elterjedtségének ellenére eddig csak almaleben és almaborban keletkezett toxin kimutatásáról tudósít a szakirodalom *Brian* et al. (32). Mint említettük, az alma ún. barna romlását a *P. expansum* okozza, amely számára kedvező esetben nagy mennyiségű toxint képez (0,9 mg patulint mutatott ki 1 g romlott részben *Frank* (31)). Ha a romlott alma gondatlanságból bekerül az egészségesek közé az almalegyártás során, a toxin a termékben változás nélkül megmaradhat. Hogy ez a veszély mennyire reális, azt a kereskedelemből vett almale és almabor minták vizsgálata mutatja *Ware* et al. (33); *Scott* et al. (13); *Rosen* és *Pareles* (34).

A patulin stabilitása az élelmiszerekben

Pohland és *Allen* (1) számos élelmiszerben vizsgálta a patulin stabilitását és azt találta, hogy almaleben és száraz kukoricában a bevitt 6–8 mikrogramm/g patulinmennyiség 14 napig változás nélkül megmaradt. Ez a megfigyelés *Scott* és *Somers*-nek (5) is az alma- és szőlőlével kapcsolatban. A 4 mg/kg-mal kezelt gyümölcsle szobahőmérsékleten mintegy három héten keresztül megőrizte toxintartalmát. De ha a fertőzött almalevet *Saccharomyces cerevisiae*vel és *Saccharomyces ellipsoideus*szal fermentálták, utána már nem lehetett kimutatni *Harwig* et al. (26). Érdekes azonban, hogy sajtához adagolva már három óra alatt gyors csökkenését figyelték meg *Stott* és *Bullerman* (23), narancsleben, búzalisztben sem stabilis *Scott* és *Somers* (5), viszonylag rövid idő múlva már nem lehet kimutatni nedves kukoricából, szójából *Pohland* és *Allen* (1). Ez arra enged következtetni, hogy kell lennie ezekben egy közös vegyületnek vagy vegyületesopornak, amely reakcióba lépve a patulinnal azt hatástalanítja. A kísérletek tanúsága szerint az SH-csoportot tartalmazó vegyületek mint pl. a glutation, a cisztein stb., képesek a patulinnal reagálni oly módon, hogy a szulfhidril csoport a patulin jellegzetes —CH=CH—C=O csoportjának kettős kötésére kapcsolódik és az addíciós reakcióban nem toxikus termék keletkezik *Hofman* et al. (35); *Reiss* (36).

A patulin hatástalanításának lehetőségei

A termostabilis patulin elbontása, illetve nem toxikus termékké való átalakítása vagy egyéb módon való eltávolításának kérdése több kutatót foglalkoztatott. Az aldehideknek kén-dioxiddal való reakciója már régóta ismert (*Braverman*, 38). *Pohland* és *Allen* (15) ezen a nyomon elindulva, 0,008 mg/cm³ koncentrációjú patulin oldatba kén-dioxidot vezettek és aközben az oldat ultrabolya-abszorpciós spektrumának változását vizsgálták. Kísérletükben már 15 perc alatt eltűnt a patulinra jellemző, 277 nm-nél levő erős abszorpciós sáv, helyet adva két újabb, alacsonyabb intenzitású sávnak, melyeknek a maximumai

a 238 és 309 nm-nél voltak. A további kén-dioxid adagolásra eltűnt minden abszorpciós maximum, jelezve a molekula struktúrájában bekövetkezett erőteljes változást.

A másik detoxikálási lehetőség volna *Sands* és társai (37) módszere, melynek során a patulin tartalmazó almabort aktív szén kezeléssel s ezt követő szűrésnek vetik alá. Ezzel a módszerrel természetesen csak derített gyümölcsleveket lehetne kezelni.

A legjobb lenne a mikotoxin képződését megelőzni. A kenyér-penészedés gátlására hozzáadott szorbinsav és szorboil-palmitát hatását vizsgálta *Reiss* (38).

Saját kutatásainkat, melyek egyrészt a patulin hőstabilitására, másrészt hatástalanítására vonatkoznak, a következő részben foglaljuk össze.

IRODALOM

- (1) *Pohland, A. E., Allen, R. J.A.O.A.C.: 53, 688, 1970.*
- (2) *Dauben, H. J., Weisenborn J.A.C.S.: 71, 3853, 1949.*
- (3) *Woodward, R. B., Singh, G. J.A.C.S.: 71, 758, 1949.*
- (4) *Heatley, N. G., Philpot, F. J.: J. Gen. Microbiol. 1, 232, 1947.*
- (5) *Scott, P. M., Somers, E.; J. Agr. Food Chem. 16, 483, 1968.*
- (6) *Lovett, J., Peeler, J. T.: J. Food. Sci. 38, 1094, 1973.*
- (7) *Ciegler, A. et al.: Microbial toxins. Vol. 6. p. 409. Academic Press. New York and London. 107*
- (8) *Chain, E., Florey, H. W., Jennings, M. A.: Brit. J. Exp. Pathol. 23, 202, 1942.*
- (9) *Abraham, E. P., Florey, H. W.: Antibiotics. Vol. p. 273. Oxford University Press, London, New York and Toronto. 1949*
- (10) *Dickens, F., Jones, H. E. H.: Brit. J. Cancer 15, 85, 1961.*
- (11) *Frank, H. K.: Mikotoxin szimpózium. Párizs. Személyes közlés. 1976*
- (12) *Pohland, A. E. et al.: J.A.O.A.C. 53, 692, 1970.*
- (13) *Scott, P. M., Kennedy, B.: J. AOAC 56, 813, 1973.*
- (14) *Stoloff, L.: J. AOAC 56, 278, 1973.*
- (15) *Pohland, A. E.; Allen, R.; J.A.O.A.C. 53, 686, 1970.*
- (16) *Tauchmann, F. et al.: Die Fleischwirtschaft 51, 1079, 1971.*
- (17) *Scott, P. M. et al.: J. Agric. Food Chem. 20, 450, 1972.*
- (18) *Reiss, J.: MicrochimicaActa I. 473, 1975*
- (19) *Bullerman, L. B., Hartung, T. E.: Cereal Sci. Today. 18, 346, 1973.*
- (20) *Sommer, N. F. et al.: Appl. Microbiol. 28, 1974.*
- (21) *Meyer, R. A.: Nahrung 20, 79, 1976.*
- (22) *Verret, J. M. et al.: J.O.A.C. 47, 1003, 1964.*
- (23) *Stott, W. T., Bullerman, L. B.: J. Milk Food Technol. 38, 695, 1975.*
- (24) *Graves, R. R., Hesselstine, C. W.: Mycol. Appl. 29, 277, 1966.*
- (25) *Atkinson, N.: Austr. J. Exp. Biol. and Med. Sci. 21, 15, 1943.*
- (26) *Harwig, J. et al.: Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 6, 22, 1973.*
- (27) *Yates, A. R.: Can. Inst. Food Sci. Techn. J. 7, 148, 1974.*
- (28) *Mintzlaff, H. J., Leistner, L.: Die Fleischwirtschaft 51, 1077, 1971.*
- (29) *WU, M. T. et al.: Appl. Microbiol. 28, 1094, 1974.*
- (30) *Lovett, J., Thompson, R. G.: Bacteriol. Proc. 1973. E71. (Abstract).*
- (31) *Frank, H. K.: Zbl. Bakt. Hyg. I. 159, 424, 1974.*
- (32) *Brian, P. W., Elson, G. W., Lowe, D.: Nature 178, 263, 1956.*
- (33) *Ware, G. M., Thorpe, C. W., Pohland, A. E.: J.A.O.A.C. 57, 1111, 1974.*
- (34) *Rosen, J. D., Pareles, S. R.: J. Agr. Food Chem. 22, 1024, 1974.*
- (35) *Hofman et al.: Die Fleischwirtschaft 51, 1534, 1971.*
- (36) *Reiss, J.: Cereál Chem. 53, 2. 150, 1976.*
- (37) *Sands, D. E. et al.: Appl. and Environmental Microbiology. 9, 388, 1976.*
- (38) *Braverman, J. B. S.: J. Sci. Food. Agr., 540, 1953.*
- (38) *Reiss, J.: D. L. R. 2, 51, 1976.*
- (39) *Pero, R. W. et al.: J. Chromatog. 65, 501, 1972.*
- (40) *Suzuki, T. et al.: Agr. Biol. Chem. 38, 1259, 1974.*
- (41) *Suzuki, T. et al.: J. of Chromatography 105, 95, 1975.*
- (42) *Fujimoto, Y. et al.: J. of Chromatog. 105, 99, 1975.*

ЕГО НАЛИЧИЕ ПАТУЛИНА И ОБЕЗВРЕЖИВАНИЕ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Фаркаш Йозефна и Шреинер Эрнест

Авторы обращают внимание на один из самых опасных микотоксинов, на патулин. Приводят литературный обзор об анализе токсинов, с особым вниманием на тонкослойную хроматографию.

Обсуждают условия образования токсинов в пищевых продуктах и их стабильность. Занимаются исследовательскими работами проведенных до сих пор по обезвреживанию патулина. В этой области полученные свои результаты будут сообщены в следующей части.

VORKOMMEN UND IN AKTIVIERUNG DES PATULINS IN LEBENSMITTELN, I.

J. Farkas and E. Schreiner

Die Aufmerksamkeit wird auf Patulin, ein der gefährlichsten Mykotoxine gelenkt. Es wird eine Zusammenfassung der Literatur über die Analytik dieses Toxins – mit besonderer Rücksicht auf die Dünnschichtchromatographie – gegeben.

Die Umstände der Bildung des Toxins in Lebensmitteln und ihre Stabilität werden besprochen. Schliesslich beschäftigen sich die Verfasser mit den bisherigen Forschungen über die Inaktivierung des Patulins. Ihre diesbezügliche eigene Forschungsergebnisse werden im zweiten Teil der Abhandlung veröffentlicht.

OCCURRENCE AND DEACTIVATION OF PATULIN IN FOODS. I.

J. Farkas and E. Schreiner

Attention is called to patulin, one of the most dangerous mycotoxins. A survey is given on the literature of the analysis of patulin with particular respect to thin layer chromatography.

The conditions of the formation of patulin in foods and its stability were discussed. Lastly, researches concerning the deactivation of patulin carried out up to the present are dealt with. The results of own results in this field will be described in part II of the paper.