

## Mikotoxin vizsgálatok élelmiszerekben I.

### KAPILLÁRIS GÁZKROMATOGRÁFIA ALKALMAZÁSI LEHETŐSÉGE HAZAI GABONÁK ZEARELENON (F-2 TOXIN) TARTALMÁNAK MEGHATÁROZÁSÁRA

BATA ÁRPÁD, GALÓCZI JÓZSEF, LÁSZTITY RADOMIR  
BME Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszék

*Érkezett: 1980. március 27.*

A 60-as évek elején Angliában történt tömeges pulyka elhalás a mikotoxin kutatás nemzetközi méretű megindulását eredményezte. Számos ország kutatói mellett hazai kutatók is bekapcsolódtak a munkába. A 70-es évek elején hazánkban fellépett nagyobb számú mikotoxinoknak tulajdonítható állatmegbetegedés nagy lökést adott a hazai kutatásnak is. Az elmúlt 6–8 év alatt, a magyarországi klimatikus viszonyok között gyakori mikotoxin, a zearalenon meghatározására mind mennyiségi, mind minőségi szempontból hazai kutatók is számos eljárást dolgoztak ki, illetve javasoltak [1].

E terület népgazdasági fontosságának, valamint az alkalmazott analitikai eszközök, műszerek tökéletesedésének köszönhető, hogy 1978. január 1-től szabvány írja elő a takarmányok zearalenon tartalmának meghatározását. A szabvány által kötelezően előírt VRK módszerrel végzett mérési eredmények megbízhatósága, pontossága nem elégíti ki minden esetben a követelményeket. E felismerés volt az oka annak, hogy e folyóiratban is cikk jelent meg gabonafélék zearalenon tartalmának meghatározására gázkromatográf alkalmazásával (2). A gázkromatográfnál, ha nem kellően hatékony elválasztást alkalmazunk, akkor egyes mintáknál nagy analitikai hiba következhet be. Jelen munkánkban olyan analitikai megoldást tűztünk ki célul, amellyel a korábbinál jobb, pontosabb és megbízhatóbb mérési eredményt nyerhetünk mind a mennyiségi, mind a minőségi meghatározásnál.

#### Vizsgálati anyagok

Munkánkhoz különböző mezőgazdasági üzemekből származó takarmányt (kukorica, búza, árpa, táp) használtunk fel. A minták mikrobiológiai állapotát nem ismertük, nem volt ismeretes az, hogy okoznak-e megbetegedést, vagy sem. Feladat volt annak eldöntése, hogy tartalmaznak-e, ha igen, milyen mennyiségben zearalenont.

#### Mintaelőkészítés

Mintegy 1 kg mintát jól összekevertünk és különböző helyekről 60–80 g anyagot vettünk ki. Ezt kézi darálóval búzadara finomságúra őröltük. Az őrlemből 10 g-ot 400 cm<sup>3</sup>-es Erlenmayer edénybe tettünk és 3 órán át 200 cm<sup>3</sup> etil-acétáttal szobahőmérsékleten extraháltuk. Az extraktumot leszűrtük és vákuum

Rothadest-tel közel szárazra pároltuk. Olajszerű maradékokat kaptunk, amelynek analizésére két tisztítási módszert hasonlítottunk össze.

Az első eljárásnál Kiselgel – 60 oszlopon tisztítottuk a mintát.

Egy 2 cm vastag üveg kolonnát 15 cm hosszban megtöltöttük Kiselgel 60-nal. A föltetre 1,5–2 cm<sup>3</sup> benzolban oldva felvittük a mintát. 30 cm<sup>3</sup> benzollal eluáltuk a szennyező anyagokat, 20 cm<sup>3</sup> benzol:aceton (9:1) oldattal a szá-munkra értékes frakciót és azt szárazra pároltuk [3].

A másik megoldásnál elkerültük a munkaigényes oszlopkromatográfiát és egy egyszerű folyadék-folyadék-megoszlást alkalmaztunk.

Az olajos mintát 20 cm<sup>3</sup> metanol-víz (5:1) oldatban felvettük és 20 cm<sup>3</sup> petrol-éterrel háromszor extraháltuk. A vizes maradékokat vízmentes NaSO<sub>4</sub>-on megszá-rítottuk és szárazra pároltuk [4].

### A zearalenon származék képzése

A vizsgált anyagunk kis illékonyságú vegyület. Közvetlenül nem kromatogra-fálható. Vizsgálathoz származékát kell képeznünk. A származék képzésre TRI – SYL BT jelzésű szililező szert alkalmaztunk. A reakciót úgy végeztük el, hogy a szárazra párolt mintához 50 mm<sup>3</sup> reagenst adtunk. A reakció szobahőmérsékleten 20 perc alatt teljes. A reakció elegyből közvetlenül injektáltunk a gázkromatog-ráfiás készülékbe [5].

### Kromatográfiás vizsgálat körülményei

Az oszlopkromatográfiával tisztított mintákat Chrom – 41 típusú gázkroma-tográfával vizsgáltuk. Saját készítésű üvegkapillárist SP 2100-as (metilszilikon) meg-osztó fázissal nedvesítettünk. Az injektor blokk hőmérséklete 220 C° a detektor blokké 240 C° volt. A termosztátot 100 – 260 C° tartományban 4 C°/min program-mal fűtöttük. A második eljárással előkészített minták vizsgálatához Packard 7000 típusú gázkromatográfot használtunk. Ugyancsak sajátkészítésű 16 m hosszú SE – 52-vel nedvesített (3% fenil, metilszilikon) üvegkapillárist használtunk. Az injektor blokk hőmérséklete 200 C°, a detektor blokké 240 C° volt. A termosztátot 3 C°/min programmal fűtöttük 130 – 260 C° között.

A készülék a kalibrálás alapján lineáris összefüggést adott zearalenon koncent-ráció és jelmagas ság között a 10 ng – 10 µg/injektálás koncentráció tartományban

### Eredmények

Megállapítottuk, hogy a kapilláris gázkromatográfia alkalmazható takarmá-nyok (kukorica, búza, lucernaliszt, sertéstáp) mikotoxin tartalmának meghatáro-zására.

A gázkromatográfhoz történt előkészítés munkaigényét lényegesen lehetett csökkenteni a kapilláris technika alkalmazásával. Azt, hogy az oszlopkromatog-ráfiás tisztítás elhagyásával a minta mátrixa bonyolultabb lett, azzal ellensúlyoz-tuk, hogy egy lényegesen hatékonyabb elválasztást alkalmaztunk. Megállapítottuk azt, hogy ha a tisztítás egyszerűsítése nem jár együtt a hatékonyabb elválasztással a meghatározás megbízhatatlanná válik.

A módszer használhatóságát különböző takarmány alapanyagok, illetve tápok esetében az 1. táblázatban összefoglalt eredmények szemléltetik.

Különböző takarmányok zearalenon tartalma  
kapilláris gázkromatográfiával mérve  
(oszlopkromatográfiás előtisztítás nélkül)

Minta megnevezése	Mért zearalenon koncentráció
Kukorica I ....	350 ppb
Kukorica II ....	2700 ppb
Búza .....	1250 ppb
Lucernaliszt ....	410 ppb
Sertéstáp I ....	5750 ppb
Sertéstáp II ....	4120 ppb

A módszer alkalmasnak bizonyult a minták zearalenon tartalmának meghatározására a 20 ppb – 10 ppm koncentráció tartományban. A meghatározás határfoka 70%-nak adódott, a szórása  $\pm 20\%$  (10 párhuzamost mérve 100 ppb koncentrációjú zearalenon mintából).

## IRODALOM

- (1) Hazai mikotoxin vizsgálatok (Szerk. Incze K.) MÉTE Kiskönyvtár Budapest, 1968.
- (2) Drucker T.: ÉVIKE 21, 59, 1975.
- (3) Mycotoxins Elsevier Scientific Publishing Company Amsterdam, 1975.
- (4) Szathmáry Cs., Mirocha C. J., Pathre S. U., Palyusik M.: Appl. and Environ Microbiol 32, 579.
- (5) Mirocha C. J., Christensen C. M., Nelson G. H.: Appl. Microbiol 15, 497.

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКОТОКСИНОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ. I.  
ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ КАПИЛЛЯРНОЙ ГАЗОВОЙ  
ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ  
ЗЕАРАЛЕНОНА ЗЕРНОВЫХ

А. Бата, Й. Галоци, Р. Ластить

Авторы применением капиллярной газохроматографии изучали определение содержания зearаленонa кормов. Установили, что применением высокоэффективного разделения можно сократить потребность подготовительной работы образца (можно пропустить предварительную чистку помощью колонной хроматографии) сохранением надежных результатов измерений. Определение проводили помощью прибора Паккард 7000 увлажненной разделительной фазой SE-52 и помощью стеклянокапиллярной колонны собственного изготовления. Данным методом в диапазоне 20 ppb – 10 ppm могли надежно проводить определения.

MYCOTOXINUNTERSUCHUNGEN IN LEBENSMITTELN. I. ANWENDUNGSMÖGLICHKEITEN DER KAPILLAREN GASCHROMATOGRAPHIE ZUR BESTIMMUNG DES GEHALTES AN ZEAREALENON (F-2 TOXIN) IN INLÄNDISCHEN GETREIDEN

*Á. Bata, J. Galóczi, R. Lásztity*

Die Bestimmung des Zearalenongehaltes von Futtermitteln mittels kapillaren Gaschromatographie wurde studiert. Es wurde dabei festgestellt, dass der Arbeitsaufwand der Vorbereitung des Musters durch Anwendung einer hochwirksamen Abtrennung vermindert werden kann (die Vorreinigung mittels Kolonnenchromatographie wird überflüssig), ohne irgendeine Änderung der Verlässlichkeit der Messergebnisse. Die Bestimmungen wurden mittels eines Gerätes von Packard 7000 Typ unter Verwendung einer mit einer SE-52 Verteilungsphase benetzten kapillaren Glaskolonne eigener Herstellung durchgeführt.

Mittels dieser Methode kann man im Bereich 20 ppb – 10 ppm verlässliche Bestimmung durchführen.

MYCOTOXIN INVESTIGATIONS IN FOODS. I. APPLICABILITY OF CAPILLARY GAS CHROMATOGRAPHY FOR THE DETERMINATION OF THE ZEAREALENON (F-2 TOXIN) CONTENT OF HUNGARIAN CEREALS

*Á. Bata, J. Galóczi and R. Lásztity*

The determination of the zearalenon content of fodders with the use of capillary gas chromatography was studied. It was found that by applying a very efficient separation the labour requirement of sample preparation can be decreased (previous purification by column chromatography can be omitted) under preservation of reliable results of measurement. Determinations were carried out by an instrument of Packard 7000 type, with the use of a capillary glass column of own construction, wetted by SE-52 separating phase. By this method, reliable determinations can be carried out in the range from 20 ppb to 10 ppm.