

Mikotoxin vizsgálatok élelmiszerekben II. Zearalenon (F – 2 toxin) meghatározása spektrofluorométerrel

BATA ÁRPÁD, KISS EMERENCIA, LÁSZTITY RADOMIR
Budapesti Műszaki Egyetem Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszék

Érkezett: 1980. március 27.

Előző közleményekben (1) már érintettük a mikotoxin fertőzéssel összefüggő általános analitikai problémákat. Jelen közleményben a *Fusarium* toxinok analitikájával összefüggő további lehetőségeket elemezzük.

A hazai éghajlati viszonyok a *Fusarium* gombák elszaporodására kedvező feltételt biztosítanak. Ezek a gombák számukra optimális körülmények között emberre, állatra oesztrogén tulajdonságú metabolitot, zearalenont termelnek. Az állat, esetleg az ember megbetegedésének elkerülésére a toxikus anyag előfordulását vizsgálni kell a felhasználásra kerülő tápanyagokban. Spektrofluoriméterrel gyors és megfelelően pontos koncentráció meghatározására nyílik lehetőség. Hazai viszonylatban *Sarudi* és *Kása* (4) végzett e téren kezdeti kísérleteket. Ahhoz azonban, hogy a mérési eredmények megbízhatók legyenek, speciális mintaelőkészítést kell alkalmazni.

A forgalomban levő készülékek a gyakorlati feladat számára megfelelő érzékenységgel dolgoznak. A feladat úgy fogalmazható meg, hogy a mátrixból a vizsgálendő anyag mellől el kell távolítani az olyan kísérő anyagokat, amelyek a gerjesztő fénysugárral a mérendő hullámhosszon emisszióra képesek.

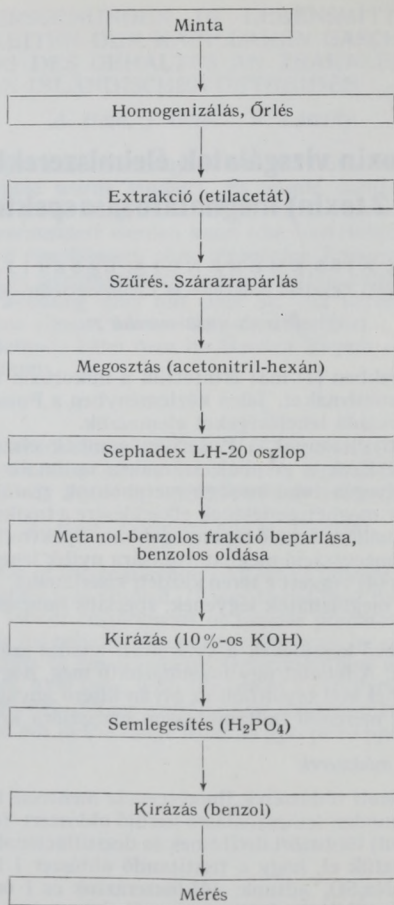
Vizsgálati anyagok és módszerek

A munkát az alkalmazott oldószerek fluoreszcencia mentessé tételével kell kezdeni. Ez azt jelenti, hogy minden felhasználásra kerülő oldószert (etilacetát, acetonitril, hexán, benzol, metanol) többszöri derítésnek és desztillációnak kell alávetni.

A tisztítást úgy végeztük el, hogy a tisztítandó oldószert 1 literjéhez 10 g aktívzenet és 50 g vízm. Na_2SO_4 adtunk, jól összezártuk és 1 órán át állni hagytuk. Leszűrjük, majd ledesztilláltuk. A tisztítási műveletet mindaddig ismételtük, míg az oldószert fluoreszcencia értéke a végkitérés 0,5%-nál kisebb nem lett (465 nm mérendő hullámhosszon).

Mintaelőkészítés

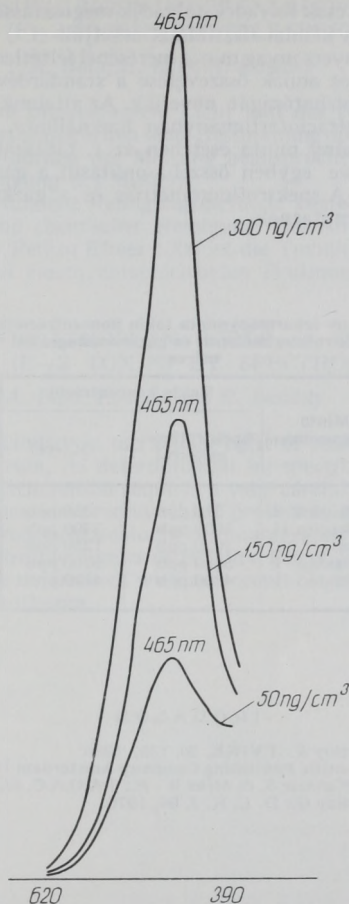
Vizsgálati mintaként gabonákat (kukorica, búza) és sertéstápokat használtunk fel. Körülbelül 1 kg mintát jól összekevertünk és a minta különböző helyeiről 60–80 g anyagot vettünk ki. A kivett anyagot kézi darálón búzadara finomságúra daráltuk. Az így nyert anyagból 10 g-ot egy 400 cm³-es Erlenmeyer lombikba tettünk és 200 cm³ az előzőekben ismertetett módon megtisztított etilacetátot adtunk hozzá. 2 órán keresztül szobahőmérsékleten állni hagytuk, majd leszűrjük. A szűrletet közel szárazra pároltuk és 20 cm³ acetonitrilben feloldottuk, választótölcsérbe öntöttük és 25 cm³ hexánnal kiráztuk. Az alsó acetonitriles fázist ismételtelen bepároltuk [2]. A maradékot 2 cm³ benzolban feloldottuk és 1 cm átmérőjű üvegcsőben



1. ábra
Mintaelőkészítés folyamatábrája

10 cm magasan töltött Sephadex LH-20 oszlopra öntöttük. Az eluciót 20 cm³ benzollal kezdtük, majd 10 cm³ benzol-metanol (5:1) elegyével eluáltuk a zearalenont. A zearalenont tartalmazó eluátumot bepároltuk és 10 cm³ benzolban feloldottuk. A benzolos oldatot 3×5 cm³ 10%-os KOH-val kíráztuk. A vizes fázis pH-ját 10% H₃PO₄-vel 8–8,5-re állítottuk be és 3×5 cm³ benzollal kíráztuk [3]. A benzolos fázist vízmentes Na₂SO₄-vel megszáritottuk és közvetlenül a spektrofotométer küvetájába tettük belőle a szükséges mennyiséget. A tisztítási folyamatot az 1. ábrán mutatjuk be.

Perkin Elmer 1000 típusú spektrofotométert alkalmaztunk. A gerjesztő fényt 310 mm szűrővel szűrtük.



2. ábra
Az F-2 kalibrációs diagramja

Eredmények és értékelésük

Megállapítottuk azt, hogy 310 nm-es gerjesztő szűrőt alkalmazva zearalenonra 465 nm-nél van az emissziós maximum. Néhány standarddal felvett emissziós spektrumot a 2. ábrán mutatunk be.

A készülék zearalenonra nézve 465 nm emissziós maximumnál 10–500 mg/cm³ tartományban a kalibráció lineáris volt. Megállapítottuk azt, hogy a preparatív VRK nem alkalmazható, mert zavaró szennyező anyagot visz a mérő rendszerbe.

A megfelelő tisztítást csak folyadék-folyadék megosztással, majd az ezt követő oszlopkromatográfiával és kémiai tisztítással érhetjük el.

Természetes eredetű nyersanyag minta mérésénél feltétlenül szükséges az emisziós spektrum felvétele és annak összevetése a standardéval annak érdekében, hogy az eredmények megbízhatóságát növeljük. Az általunk alkalmazott módszer 20 ppb–10 ppm koncentrációtartományban használható. Néhány takarmánygabona és keveréktakarmány minta esetében az 1. táblázatban összesített eredményeket kaptuk, közölve egyben összehasonlítást a gázkromatográfiával mért adatokat is (1. táblázat). A spektrofluorometriás és a gázkromatográfiás mérési eredmények jó egyezést mutatnak.

1. táblázat

Néhány takarmányminta toxin koncentrációja spektrofluoriméterrel és gázkromatográfiával mérve

Minta megnevezése	Toxin koncentráció	
	Spektrofluoriméterrel	GC -vel
Kukorica I	310 ppb	350 ppb
Kukorica II	2900 ppb	2700 ppb
Búza	1020 ppb	1250 ppb
Sertéstáp I	5680 ppb	5750 ppb
Sertéstáp II	4300 ppb	4120 ppb

I R O D A L O M

- (1) Bata Á. – Galóczi J. – Lászlóty R.: ÉVIKE, 26, 135, 1980.
- (2) Mycotoxins. Elsevier Scientific Publishing Company Amsterdam 145 oldal, 1974.
- (3) Scott P. M., Panalaks T., Kanhese S. és Miles W. F.: J.A.O.A.C. 61, 593, 1978.
- (4) Sarudi I. – Kása I., Bajnóczy G.: D. L. R. 3, 96, 1976.

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКОТОКСИНОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ. II. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИНА ЗЕАРАЛЕНОНА (F – 2) СПЕКТРОФЛУОРОМЕТРОМ

А. Бата, Е. Киш, Р. Ластить

Идентифицируемость (токсина F – 2) зеараленонa в свете УФ и флуоресцентный спектр предоставляет возможность проводить определение спектрофлуоретрией. Проведение надежного измерения требует четкую подготовку и очистку образца.

Подходящим способом очистки является метод состоящий из распределения жидкость – жидкости, колонной хроматографии и химчистки. Применение спектрофлуорометр типа Перкин Елмэр 1000 в концентрации 20 ppb – 10 ppm при соответствующей ошибке определения можно провести определение концентрации токсина.

MYCOTOXINUNTERSUCHUNGEN IN LEBENSMITTELN. II. BESTIMMUNG DES ZEARALENONS (F - 2 TOXINS) MITTELS SPEKTROFLUOROMETRIE

Á. Bata, E. Kiss, R. Lásztity

Die Erregbarkeit in ultraviolettem Licht und das Fluoreszenzspektrum des Zearalenons (F-2 Toxins) ermöglichen seine Bestimmung durch Spektrofluorometrie. Die verlässliche Durchführung der Messung beansprucht jedoch eine gründliche Vorbereitung und Reinigung des Musters.

Die als geeignet gefundene Reinigungsmethode besteht aus Teilung, Kolonnenchromatographie und chemischer Reinigung. Bei Anwendung eines Spektrofluorometers vom Typ Perkin Elmer 1000 ist die Toxinkonzentration im Bereich 20 ppb - 10 ppm bei einem entsprechenden Bestimmungsfehler bestimmbar.

MYCOTOXIN INVESTIGATIONS IN FOODS. II. DETERMINATION OF ZEARALENON (F - 2 TOXIN) BY SPECTROFLUOROMETRY

Á. Bata, E. Kiss and R. Lásztity

Owing to the excitability in ultraviolet light of zearalenon and on the basis of its fluorescent spectrum, its determination by spectrofluorometry is possible. However, a reliable determination requires a very careful sample preparation and purification. The purification process which proved to be suitable consists of a liquid-liquid partition process, of a column chromatography and of a chemical purification. On using a spectrofluorometer of Perkin - Elmer 1000 type, the concentration of the toxin can be determined with an acceptable error in the concentration domain from 20 ppb to 10 ppm.