



IRODALOM

[1] Á. Papp-Bata, Z. Csiki, Z. Szakály, Magy. Gasztroenterológia (2014) 1–7.
 [2] Z. Bedő, L. Láng, G. Vida, M. Rakszegi, Magy. Tudomány (2014) 1–6.
 [3] H. K. Biesalski et al., Nutrition (2009) 25 (11–12), 1202–1205.
 [4] A. Guaadaoui, S. Benaicha, N. Elmajdoub, M. Bellaoui, A. Hamal, Int. J. Nutr. Food Sci. (2014) 3(3), 174–179.
 [5] C. M. Galanakis, Introduction. Chania: Elsevier Inc., 2017.
 [6] K. Jonsson et al., Trends Food Sci. Technol. (2018) 79, 78–87.
 [7] A. L. Holguin-Acuña, et al., Heal. Dis. Prev. (2011) 153–159.
 [8] A. Sharma, Wheat grain structure, quality and milling, in: Hisar: Directorate of Distance Education Guru Jambheshwar University Of Science And Technology, 2011.
 [9] E. Nordlund, R. L. Heiniö, K. Viljanen, J. M. Pihlava, P. Lehtinen, K. Poutanen, Food Res. Int. (2013) 54(1), 48–56.
 [10] L. Saulnier, P. E. Sado, G. Branlard, G. Charmet, F. Guillon, J. Cereal Sci. (2007) 46(3), 261–281.
 [11] A. Bento-Silva, M. C. Vaz Pato, M. do Rosário Bronze, Food Chem. (2017) 246, 360–378.
 [12] R. Paz-Samaniego et al., Sustain. (2016) 8(11), 9353–9361.
 [13] K. Gebruers et al., J. Agric. Food Chem. (2010) 58(17), 9353–9361.
 [14] P. R. Shewry et al., J. Agric. Food Chem. (2010) 58(17), 9291–9298.
 [15] A. A. Andersson, R. Andersson, V. Piironen, A. M. Lampi, Food Chem. (2013) 136(3–4) 1243–1248.
 [16] K. Gebruers, Quantification of arabinoxylans and their degree of branching using gas chromatography, in: Healthgrain methods: analysis of bioactive components in small grain cereals, American Association of Cereal Chemists, Inc (AACC), St Paul, 2009, 177–189.
 [17] P. R. Shewry, J. M. Hawkesford, V. Piironen, A.-M. Lampi, K. Gebruers, D. Boros, J. Agric. Food Chem. (2013) 61(35), 8295–8303.
 [18] M. B. Vignola, M. Moiraghi, E. Salvucci, V. Baronia, G. T. Pérez, J. Cereal Sci. (2016) 71, 217–223.
 [19] B. Stone and M. K. Morell, Carbohydrates, in: Wheat: Chemistry and Technology, Minnesota, 2009, 299–362.

Varga Emese – Sörös Csilla

■ SZIE Alkalmazott Kémia Tanszék, Peszticid és Mikotoxin Analitikai Kutatócsoport

Az igazi átváltozóművészek: peszticid-metabolitok és maszkolt mikotoxinok élelmiszereinkben

Bevezetés

Az átváltozóművészet minden testidegen anyagra jellemző, melyeket a szervezet nem épít be szerkezeti elemeibe és energiaforrásként sem használ fel. Testidegen jelleük miatt ezektől az anyagoktól minden élőlény igyekszik megszabadulni, melynek eszköze az átváltoztatás, vagyis transzformáció [1]. Testidegen anyagok közé tartoznak például a növényvédő szerek, de lehetnek testidegen anyagok a természet által alkotott mérgek is, ilyenek a mikotoxinok.

A növényvédő szerek célja a kultúrnövényeket károsító, azok életterét elfoglaló élőlények elpusztítása, gyérítése, riasztása, vagy a károsítók és növények életfolyamatainak szabályozása – beleértve a növényzet lombtalanítását és leszárítását is. Az alkalmazás célcsoportja alapján elkülönítünk többek között gombairtó (fungicidek), rovarölő (inszekticidek) és növényirtó (herbicidek) szereket [2]. A mikotoxinok fonalas gombák mérgező másodlagos anyagcseretermékei, melyeket elsősorban *Asper-*

gillus, Fusarium, Penicillium és *Alternaria* fajok termelnek, jelentős élelmezés-egészségügyi problémákat és gazdasági károkat okozva világszerte. A mikotoxinok a legmérgezőbb természetes élelmiszer-szennyezők, melyek nyomnyi mennyiségben is karcinogén, immunszuppresszáns, genotoxikus, neurotoxikus, teratogén vagy mutagén hatást gyakorolnak az élő szervezetekre [3]. A gabonaféléket a szántóföldön és a tárolás során egyaránt fertőzheti a fonalas gomba, mely megfelelő hőmérséklet és páratartalom mellett toxintermelést folytat [4].

A Szent István Egyetem Alkalmazott Kémia Tanszékén e két vegyületcsoportra irányuló analitikai módszereket fejlesztünk, vizsgálataink elsősorban élelmiszer-mátrixokra terjednek ki, emellett azonban az élelmiszer-termelés egyéb alapanyagait – például gombakomposzt, talajminták, virárgpor – is érintik. Azt gondoljuk, hogy érdemes ezeket a vegyületeket közös, átfogó szemlélettel vizsgálni, hiszen számos kapcsolódási pont fedezhető fel köztük.

- Mindkét vegyületcsoport élelmiszereink szennyezői közé tartozik, hiszen testidegen anyagok.
- Jó növényvédelmi gyakorlattal azonban mind a termesztés, mind a raktározás során csökkenthető a csíraszám, ezáltal a toxintermelés lehetősége. A toxinok megjelenését elsősorban a fungicides kezelés hatékonysága befolyásolja, de a kártevők által okozott sérüléseken is gyorsan megtelepednek a gombák, ezért a rovarölő szeres, rágcsálóirtó kezelésre is gondot kell fordítani. A gyomirtó szerekről azt mondhatjuk, kevésbé befolyásolják a toxintermelő gombák térnyerését, azonban az átváltoztatási folyamatra hatást gyakorolhatnak bizonyos adjuvánsok. Ezt a feltételezést később fejtjük ki részletesen.
- Analitikai szempontból mindkét vegyületcsoport legfőbb kölcsönhatási felülete a növényi szervezet, ezért az elsődleges vizsgálatok növényi mátrixra irányulnak.



- Általánosságban tekintve a peszticid-hatóanyagok és a mikotoxinok fizikokémiai tulajdonságai, valamint molekulaméretük hasonló, ezért meghatározásukra gondolkodhatunk közös, multikomponenses analitikai rendszerekben, melyekre számos példát látunk már a szakirodalomban [5, 6]. Kémiai szerkezetükben azonban fontos különbségeként jelenik meg a kialakulási körülmény: mivel a peszticidok nagy része szintetikus vegyület, az optimális növényi „felvehetőség” által igényelt kémiai szerkezet, valamint a hatáskifejtéshez szükséges elektronviszonyok szintetikus módszerekkel tudatosan szerkeszthetők. Ennek fontos eszköze a halogénatomok (leginkább a klóratom) beépítése a molekulába, ami nagy segítség a tömegmérésen alapuló analitikai módszereknél. A klóratom jellegzetes izotópmintázata alapján a vegyület még összetett növényi mátrixokban is könnyen „tetten érhető”. Másfelől a mikotoxinok a természet szüleményei, ezért organogén elemekből (C, H, N, O) épülnek fel. Analitikai meghatározásuk emiatt nehezebb feladat.
- Mindkét csoportra – testidegen jellegükönél fogva – jellemző az átváltozás (transzformáció), amely biotikus vagy abiotikus módon is lejátszódhat.

Nézzünk néhány példát ezekre az átváltozási folyamatokra először a peszticidok esetén. A kémiai növényvédelem legnagyobb kihívása a vízbázisú anyagcsereter elérése az élőlények által felépített gáton keresztül – ilyen a gombák sejtfa, a rovarok és a növények viaszos kutikulája. Ez a folyamat a hatóanyag-penetráció, amely segédanyagok alkalmazásával jó hatásfokkal megvalósítható. Amennyiben a mérgező anyag sikeresen a sejtbe jutott (a célcsoport függvényében legyen az növény, rovar vagy fitopatogén gombák sejtje), a szerkezet számára nem maradt más eszköz, mint az átváltoztatás, azaz a metabolizáció: elkülöníthető formába kell hozni a testidegen molekulát a sikeres elimináció érdekében. Ezek a biotranszformációs folyamatok jellemzőek és specifikusak minden élőlényben. Az átváltozás másik formája nem „szándékos” folyamat, hanem a hatóanyagok foto- és egyéb jellegű instabilitásával kapcsolatos: abiotikus tényezők (pl. napsugárzás) hatására a kijuttatást követően bomlás (transzformáció) szenvednek. Ez egyébként cél is a modern növényvédelemben, máskülönben extrém hosszán a környezetben maradnának a vegyszerek – mint a

Sörös József munkája

DDT esetében tapasztaljuk. A két folyamat közös kifejezéssel degradációnak nevezzük. Jelen dolgozatban csak a biotikus degradációval, a metabolizmussal foglalkozunk.

A mikotoxinok termelődésének hasonló célja van, mint a peszticidoké: a fonalgombák ökológiai versenytársaik ellen folytatott küzdelme. Bár kétségkívül itt a „növényvédelem” mint feladat nem merül fel. Emiatt, kémiai szerkezetük nem aszerint alakul, hogy a növényi penetráció/felszívódás/transzlokáció megvalósuljon; a legfontosabb a gyors sejtbe jutás és a hatékony pusztítás. A megtámadott élőlény sejtjein belül védekezésképpen elindul a biotranszformáció, melynek termékei a mikotoxinmetabolitok. Az analitikai kémia tudománya már mintegy 30 éve foglalkozik peszticid-metabolitok meghatározásával felismerve azt, hogy toxikológiailag releváns szereplők is lehetnek közöttük. Érdekes, hogy a mikotoxinok esetében – ez analitikai szempontból fiatalabb tudományterület – „maszkolt mikotoxinok” kifejezéssel jelöljük a metabolitokat, utalva arra, hogy



az ananyagvegyületekre irányuló mérés-technika vaknak bizonyul eme módosult szerkezetekre.

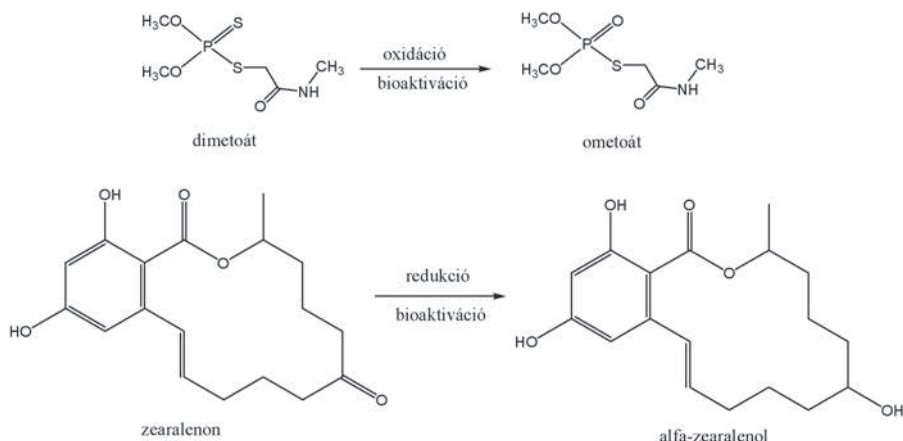
A metabolitok keletkezése, kémiai szerkezete

A metabolizmus a szervezetben több fázisban játszódik le. Az első fázisú biotranszformációban oxidázok, reduktázok és hidrolázok vesznek részt. Ezek az enzimek oxidálják, redukálják vagy más folyamatban átalakítják a szubsztrátot tekintett toxikus anyagot, bár kétségtelenül az oxidáció a leggyakoribb átalakítás. A mikroszomális oxidáz enzimeknek ugyanis nincs jelentős kémiai specificitása, ezért a legval-

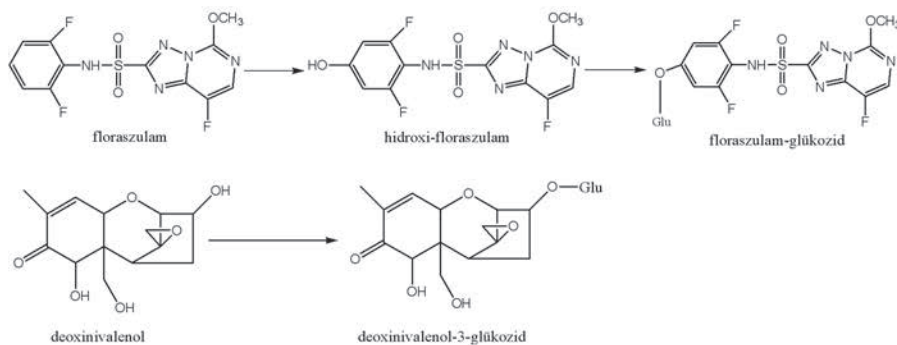


tozatosabb kémiai szerkezetű vegyületek átalakítására képesek. Az első fázisreakcióval kapcsolatban nem jelenthető ki egyöntetűen, hogy az a toxikus anyag hatástalanítását eredményezi. Sőt, ezekre a reakciókra jellemző lehet az aktivizálás, azaz a – gyógyszertantól kölcsönzött kifejezéssel élve – a propezsticid-pezsticid vagy protoxin-toxin átalakulás. Erre mutatok példát a dimetoát-ometoát pezsticid és zearalenon – α -zearalenol mikotoxin átalakulásánál. A szerves foszforsav-észter rovarölő idegmembrán épp azért lehet szelektív hatású a rovarokban (emberben kevésbé hatékony), mert az **1. ábrán** bemutatott propezsticid-pezsticid oxidációs reakció rovarok szervezetében nagyobb hatásfokkal játszódik le [7]. Az alkoholos csoporttal funkcionizált α -zearalenol fázis I. metabolit ösztrogén-mimetikus hatása fokozottabb, mint a natív toxiné [8].

A mérgeanyag metabolizmus második fázisában a molekula reaktív csoportjai konjugálódnak (reakcióba lépnek) a szervezet endogén anyagaival. Ezek az endogén anyagok fajtól függően különböznek. A növényi szervezetben glükózidos (a nagy cukortartalmú növényekben leginkább), glükuronsavas, aminosavas és glutationnal végzett konjugációk figyelhetők meg. Az állati szervezet a konjugációs reakciókat zömmel glükuronid-, szulfát-, almasav-, glutation-molekulákkal hajtja végre. A konjugáció célja minden esetben a molekula vízoldékonyságának növelése, miáltal meggyorsítja a vegyület kiürülését/elkülönítését. Az aktív csoportok, melyeken a konjugátumok kialakulnak, sokszor az I. fázisú metabolikus átalakulások során képződnek a toxikus molekulán. Fontos kiemelni, hogy az állati és az emberi szervezetben kiválasztó rendszer működik, melyel az átalakított termékek kiüríthetők. A növényi szervezetben azonban ilyen lehetőség nincs, a növények a testidegen molekulákat vakuólumokban vagy a sejtfalba beépítve tárolják, ezzel elkülönítve a víz-alapú anyagcsere-tértől. Ehhez gyakran egy harmadik fázisreakcióban lejátszódó biotranszformációt is felhasználnak, amelyek tulajdonképpen további konjugációs reakciók. A **2. ábrán** látható a két vegyületcsoport esetén hasonlóan lejátszódó biotranszformációs reakció. Floraszulam növényirtó hatóanyag esetében az első fázisreakcióban az aromás gyűrű hidroxilációja játszódik le, melyet glükózkonjugáció követ. Deoxinivalenol mikotoxin esetében a hidroxilcsoportok jelenléte miatt az első fázisreakció kimarad, a glükózkonjugáció az anyamolekulán megtörténik.



1. ábra. Dimetoát (pezsticid) és zearalenon (mikotoxin) bioaktivációs átváltozása



2. ábra. Floraszulam (gyomirtó hatóanyag) és deoxinivalenol (mikotoxin) metabolikus átváltozása búzában

Felmerülő kérdés a transzformációs termékek toxikológiai megítélése. Kétségkívül a metabolitok a növényben elsősorban detoxifikációs céllal keletkeznek, ám azokat az élelmi növényekkel együtt elfogyasztjuk. Számos esetben kimutatták, hogy a konjugált toxikus vegyületek az emberi/állati emésztés során hidrolízist szenvednek, a felszabadult natív vegyületek (anyavegyület) toxikus reakciót váltanak ki [9]. Azáltal, hogy a metabolitok a növényi szövetben maradnak, a fogyasztói kitettség szempontjából foglalkoznunk kell velük, ezért szermaradék vonatkozásában az anyavegyületekhez hasonlóan releváns anyagoknak tekintendők.

A metabolitok helye a maradékanyag-szabályozásban

A növényvédő szerek engedélyezését szigorú ellenőrzési vizsgálatok kísérik, és ezek alapján előírják a maradékanyagok maximumánál megengedhető határértékeit is (MRL: maximum residue limit, 396/2005/EU rendelet). A szermaradék definíciójának tehát mindazon kémiai formára vonatkoznia kell, melyek toxikológiai szempontból relevánsnak tekinthető, ezáltal számos metabolitra is. Az európai gyakorlatban ez a szemlélet pezsticid vonatkoz-

sában már megjelent, hiszen az MRL mg/(nyers termék kg) hányadosban kifejezett számérték a hatóanyagok mellett néhány esetben annak jól definiált, releváns metabolitjára is vonatkozik. A releváns metabolit a definíció értelmében olyan metabolit, amely biológiai hatását tekintve az anyavegyülethez hasonló tulajdonágú (biológiai aktivitása eléri vagy meghaladja az anyavegyület biológiai aktivitásának 50%-át) és/vagy toxikológiai/ökotoxikológiai szempontból súlyos/elfogadhatatlan tulajdonságokkal rendelkezik (mutagén, genotoxikus, reprotoxikus) [10]. A relevancia eldöntése érdekében toxikokinetikai vizsgálatokat végeznek már a készítmények engedélyezése során, feltérképezik a megjelenő metabolitokat, majd ezek toxicitását is tesztelik [11]. A metabolitok keletkezése és azok toxicitása azonban sok tényező együttes hatásának eredménye, ezért számos bizonytalanság nehezíti a feladatot.

A mikotoxin-maradék szabályozása az Európai Unióban, így hazánkban is néhány anyavegyületre és mátrixra terjed ki (1881/2006/EK rendelet). Metabolitok tekintetében – tudományos ismeretek hiányában – eddig egyetlen esetben találkozunk határérték-szabályozással: az aflatoxin B1 tehát hánben metabolizálódva aflatoxin M1 me-



tabolítot eredményez, amely a tejben kiválasztódva toxikus kockázatot jelent a fogyasztókra [12].

A metabolit-maradékanyag szabályozásának nehézségei

Mind a mikotoxin-, mind a peszticid-maradékanyag szabályozásában sürgető igény mutatkozik a metabolomikai megközelítésre, mégis számos nehézség áll az objektív állásfoglalás útjába. Ezek közül mutatunk be néhányat.

A metabolitok azonosítása

A méreganyagokra irányuló toxikológiai vizsgálatok gyakran nem a valódi kijuttatási/megjelenési körülményeket tükrözik. Ezeket a kísérleteket talajban, növényben, állati szervezetekben is elvégzik radioaktív, jelzett izotópanalógokkal. A fő kérdés az, hogy a laboratóriumi körülmények során keletkező metabolitok vajon *in vivo* is létrejönnek-e. A metabolitok élőlény-specifitását is számításba kell venni: növényben eltérő kémiai szerkezetű degradációs termékekre kell számítanunk, mint például az azokkal táplálkozó, számunkra pedig táplálékkul szolgáló állati szervezetekben. A növényeken belüli fajspecifitás is jellemző: búza növényben például a **2. ábrán** bemutatott floraszulam-degradáció gyors, gyomnövényekben lassú. Ez a növényvédelmi szempontból előnyös tulajdonság lehetőséget ad a hatóanyag szelektív alkalmazására búzakultúrában, ugyanakkor rávilágít arra a tényre, hogy a növényi fajtól függően a metabolitok előfordulása nagy különbségeket mutat. Továbbá, a metabolitok minősége és mennyiségi előfordulása erősen függ a környezeti körülményektől is: a mezőgazdasági és növényvédelmi gyakorlatól, a kijuttatás/megjelenés idejétől és koncentrációjától, a termény típusától stb.

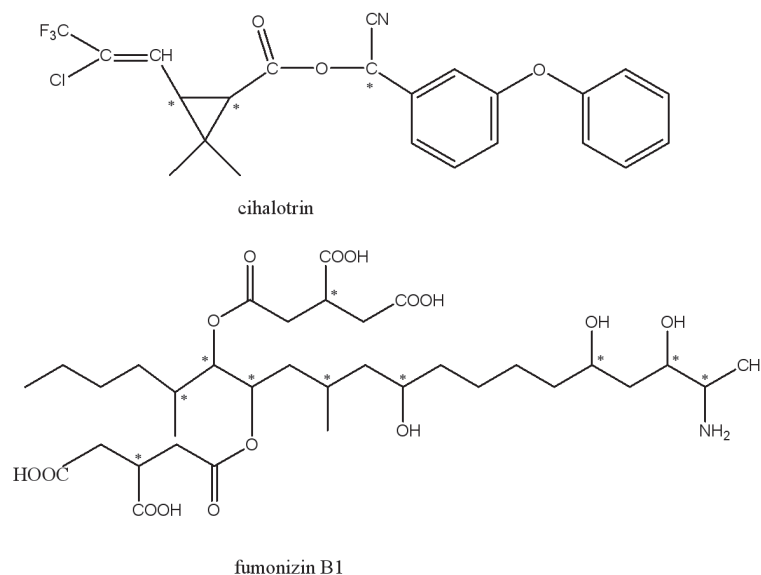
Itt fontos megemlíteni egy figyelmet felhívó összefüggést a kémiai gyomirtás és a mikotoxin metabolitok megjelenése között. A gyomirtó szerekben gyakran alkalmaznak olyan anyagokat, melyek a kultúrnövényben a hatáskifejtés helyén csökkentik egy herbicid koncentrációját. Specifikusan a hatóanyagok mellé és adott kultúrában használatosak, szaknyelven ezeket az anyagokat safenernek, antidótumnak vagy ellenanyagoknak nevezzük. Ez a hatás több módon érhető el, leggyakrabban a metabolizációs enzimek (pl. citokróm-oxidázok, glutation-transzferáz) aktivizálása által a hatóanyag transzformációját segítik elő, ezáltal védve a kultúrnövényt a növényirtó hatástól. Feltételezések szerint – a me-

tabolizáló enzimek kémiai specificitásának hiánya miatt – egyéb szennyezők, például a mikotoxinok transzformációit is elősegítik, azaz mintegy „maszkolják” a toxinokat a mezőgazdasági termelés során. Ha ez a folyamat további bizonyítást nyer, felkiáltójelet ragaszt a toxin-metabolitok szabályozási feladataihoz.

Az izoméria hatástani szerepe

A metabolitok jellemzésében további kérdést vet fel a sztereoizoméria lehetősége. Ugyanis, mint Kajtár Márton tanár úr „Változatok négy elemre” c. könyvében írta: „az élővilág királis”, ezért nem lehet ez másképp az élővilág működésére ható vegyületekkel sem. Egy vagy több aszimmetrikus szénatom jelenléte a molekulában optikai izoméria lehetőségét kínálja. Becslések alapján az agrokemikáliák negyede tartozik ebbe a csoportba, mikotoxinok között is több vegyületnél találunk ilyen lehetőséggel (**3. ábra**). Az enantiomereknél, de még inkább a diasztereomerek esetében várható a biológiai hatás különbözősége. A mai szintetikus kémia fel van készülve az enantiomer-tiszta (vagy enantiomer-dúsított) agrokemikáliák gyártására, mely által növelhető a hatékonyság, csökkenthető a szennyezőanyag mennyisége. Például a piretroidok közé sorolt rovarölő hatású vegyület a lambda-cihalotrin, amely dúsított izomer formája két biológiailag aktív diasztereomer párnak, és ezek bizonyítottan nagyobb biológiai hatékonyságú térszerkezetek. Bartók Tibor és munkatársai 29 fumonizin-izomert mutattak ki *F. verticillioides* izolátummal fertőzött rizstenyészeten kivonatában [13].

3. ábra. Optikai izoméria lehetőségei cihalotrin (peszticid) és fumonizin B1 (mikotoxin) esetén



Bizonyítást nyert, hogy a sztereoizomériai arány a metabolizmussal megváltozhat. A talidomid vegyület az ötvenes évek végén Németországban került piacra mint a Contergan nevű, vény nélkül kapható, nyugtató és terhességi hányingert mérséklő human gyógyszer hatóanyaga. Elterjedése után, a 60-as években megnőtt a fejletlen végtággal született újszülöttek száma. Bár a készítménybe a racém összetételű hatóanyag került, vizsgálatok szerint az S-enantiomer tehető felelőssé a teratogén hatásért, ugyanis ez a forma képes a DNS guanin-gazdag régiójával reakcióba lépni. Az enantiomer-tiszta R-módosulattól nem vártak ilyen hatást, azonban kiderült, hogy az *in vivo* az S-enantiomerré képes átalakulni, ezáltal szintén genotoxikus hatásúvá transzformálódik.

Tovább bonyolítja a kérdést az az eshetőség, amikor a metabolizációs folyamatok során alakul ki a királis centrum (prokirális szénatomból), vagy az izomerek szelektív módon metabolizálódnak.

Metabolitokra irányuló toxikológiai vizsgálatok

Amennyiben a metabolitok feltérképezése megtörtént, toxikológiai megítélésük alapján döntenek a relevancia kérdéséről. Az Európai Unió által 2002-ben létrehozott Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (European Food Safety Authority, EFSA) feladatai közé tartozik független tudományos szakvélemény nyújtása az élelmiszerekkel kapcsolatos meglévő és újonnan felmerülő szennyezőkkel kapcsolatos kockázatról. Mivel a metabolitok száma egy méreganyag esetén több tíz is lehet, a mindenre



kiterjedő állatkísérletes modellek nagy költség- és időráfordítással járnának. Az EFSA legújabb iránymutatásában egyértelműen támogatja a nem állatokon végzett kísérleti módszereket és az egyéb kockázatértékelési stratégiák alkalmazását, helyette minden egyéb tudományos eszköz használatát javasolja, amely alapján toxikológiai vélemények formálhatók. A jogszabály szerint: „Támogatni kell a nem állatokon végzett vizsgálati módszereket, hogy az emberek szempontjából mérhető biztonsági adatokkal szolgáljanak, és hogy felváltsák a jelenleg használt, állatokon végzett vizsgálatokat” [14]. Tény, hogy ezek a predikciók bár segítik a kockázatbecslők munkáját, döntéshozatal alapjául nem szolgálhatnak. Továbbá a sztereoizoméria kérdése ezekben a számításokban sem szerepel.

A mikotoxin- és peszticid-metabolitok mérés technikái

A fentiek alapján tehát és a nehézségek ellenére mind az általános monitoring céljára, mind az élelmiszer-kockázatbecsléshez a toxikus élelmiszer-szennyezők mellett azok releváns metabolitjainak minőségi és mennyiségi meghatározása is szükséges. Az élelmiszer-szennyezők metabolikus szemléletű (metabolomikai) megközelítése speciális látásmódot igényel abban a tekintetben, hogy ismert szennyező ismeretlen módosulatát keressük olyan komplex mátrixokban, mint a növényi és állati termékek. A feladat Achilles-sarka a minta-előkészítés, hiszen a biotranszformáció egyrészt megváltoztatja a metabolit fiziko-kémiai jellemzőit (polaritását, sav-bázis karakterét), másrészt a metabolit és a növény között erősebb kölcsönhatások is létrejöhetnek a transzformációs termékek térbeli elkülönítése (kompartmentalizáció) miatt. Ezért a konvencionálisan alkalmazott kinyerési és mintatisztítási technikák felülvizsgálatra szorulnak.

Az anyavegyületek mérés technikája ma napra már többé-kevésbé rutinszerűen kidolgozott mindkét tématerületen. Általánosságban jellemző a multikomponenses megközelítés, hiszen a regisztrált peszticid-hatóanyagok száma jelenleg az Európai Unióban 1378. Mikotoxinok tekintetében a vegyületek száma hasonló nagyságrendű, az élénk kutatásnak köszönhetően folyamatosan bővül. Ilyen mennyiségű mérhető vegyület egy mintában csak kompromisszumokkal felállított sok-komponenses mintaelőkészítéssel és mérés technikával mérhető. Az ebből kieső vegyületekre

egyedi módszerek kidolgozása szükséges, jelentősen terhelve a rutin monitoringmunka költségeit. Az analitikai módszert illetően ma már a kiemelkedő szelektivitású elválasztástechnika és tandem tömegspektrometria kapcsolt rendszerek terjedtek el. [15]. Az élelmiszertudományt képviselő felsőoktatási műhelyeknek fontos feladata a hallgatók felkészítése az ilyen rendszerek rutinszerű üzemeltetésére [16].

Mintaelőkészítés céljára szintén vannak rutin protokollok, leginkább a peszticid-analitika területén. A „QuEChERS” mintaelőkészítési technika névadója mozaikszó (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe), 2003 óta a leginkább elterjedt módszer a növényvédőszer-maradékok analitikájában [17]. Az anyavegyületek többségénél és néhány metabolitnál is jó kinyerési hatásokkal (70–120%) alkalmazható [18]. Alapja a szerves oldószerrel végzett extrakció, melyet tisztítási lépések követnek. Ez utóbbi lépések rendkívül fontosak a ng/g nagyságrendben előforduló szennyezőanyagok kvantitatív meghatározásában. A tisztítási lépéseket mintamátrixtól függően kell alkalmazni, de növényi termékeknél a protokoll hasonlóan alakul: kioldással eltávolítjuk a vízben oldott poláris alkotókat, a szerves savak megkötésére bázikus felületű (pl. primer-szekunder amin, PSA), növényi színanyagokra szénalapú (GCB) szorbenseket használunk például.

A metabolitok analízisének a mérés technika olyan módon változik, hogy az ismeretlen vegyületek azonosítására nagy felbontású rendszereket csatolunk a HPLC mögé, például a hibrid (pl. Q-TOF) tömegspektrometriát. Az elválasztástechnikai módszer ez esetben kevésbé a vegyületek egymástól való elválasztását, sokkal inkább a zavaró mátrixkomponensektől való elválasztást szolgálja. A mintaelőkészítés során ugyanis a tisztítási lépések nem használhatók ugyanolyan bátorsággal, mint az anyavegyületek esetén, hiszen a metabolitok várhatóan polárisabbak, valamint – főleg halogén tartalmuknak köszönhetően – a hidroxil-csoportok savi karaktere olyannyira megnőhet, hogy a bázisos szorbensek ezeket is megkötik. Metabolomikai analízisben a fentiek miatt sokkal inkább elterjedt a tisztítási lépések teljes elhagyása, azaz a „dilute-and-shoot” technika. Ez esetben csupán egy kompromisszumos oldószer-összetételt kell kijelölni (sokszor ez is nehéz), és ezzel végezni az extrakciót. Az extraktum hígítása után (mátrixhatás csökkentése) az oldat mérésre kész, injektálható. Hátránya, hogy a mintamátrix jelentős (kioldható) része az extraktumban marad,

erősen terhelve a mérés technikát mind ki-mutathatóság, mind szennyezés szempontjából.

*

Kutatócsoportunk metabolitokra irányuló módszerek fejlesztésén dolgozik, melyeket élelmiszer-mintákon tesztelünk [19]. Célunk, hogy az átváltozóanyagokat mihamarabb tetten érjük, azonosítsuk, hogy esetleges bűnösségüket felsőbb szervek megállapíthassák.



Köszönetnyilvánítás. A tanulmány alapjául szolgáló kutatást az Emberi Erőforrások Minisztériuma által meghirdetett Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Program (1783-3/2018/FEKUTSTRAT) támogatta, a Szent István Egyetem növénynevelés, növényvédelemmel kapcsolatos kutatások tématerületi programja keretében.

IRODALOM

- [1] Cs. Soeroes, W. Goessler, K. A. Francesconi, E. Schmeisser, R. Raml, N. Kienzl, M. Kahn, P. Fodor, D. Kuehnelt, *Journal of Environmental Monitoring* (2005) 7, 688–692.
- [2] W. Kraemer, U. Schirmer, P. Jeschke, M. Witschel, *Modern Crop Protection Compounds*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Germany, 2012.
- [3] R. Zhu, N. Liu, L. Yang, Y. Deng, J. Wang, S. Song, A. Wu, Z. Zhoul, J. Hou, *Anal. Bioanal. Chem.* (2015) 407, 7359–7368.
- [4] L. Anfossi, C. Giovannoli, C. Baggiani, *Curr. Opin. Biotechnol.* (2016) 37, 120–126.
- [5] H. G. J. Mol, P. Plaza-Bolaños, P. Zomer, T. C. de Rijk, A. A. M. Stolker, P. P. J. Mulder, *Anal. Chem.* (2008) 80(24), 9450–9459.
- [6] O. Lacina, M. Zachariasova, J. Urbanova, M. Vaclavikova, T. Cajka, J. Hajšlova, *Journal of Chromatography A* (2012) 1262, 8–18.
- [7] Cs. Sörös, *Növényvédelmi Kémia és Toxikológia, Tanterületi Segédlet Növényorvos Hallgatóknak*, 2018, 150. oldal, kiadás alatt.
- [8] M. Loi, F. Fanelli, V. C. Liuzzi, A. F. Logrieco, *Toxins* (2018) 9, 111.
- [9] F. Berthiller, R. Krška, K. J. Domig, W. Kneifel, N. Juge, R. Schuhmacher, G. Adam, *Toxicol. Lett.* (2011) 206 (3), 264–267.
- [10] *Növényvédelmi Módszertani Gyűjtemény*: <https://elemiszerlanc.kormany.hu/download/b/01/21000/MGY%20EATE.pdf>
- [11] <https://portal.nebih.gov.hu/documents/.../29de8df-d-5184-43be-996d-2e1ec19bf6e1>
- [12] www.eur-lex.europa.eu
- [13] T. Bartók, *Új fumonizin mikotoxinok azonosítása HPLC-MS módszerekkel, Akadémiai doktori értekezés*, Szegedi Tudományegyetem, 2012.
- [14] European Food Safety Authority (EFSA), *EFSA Journal* (2012) 10(07), 2799.
- [15] A. Vass, E. Bujna, Zs. Rapi, Cs. Soros, *Follow up metabolism and its metabolism in Lactobacillus Casei 01 and in cocktail tomato*, 8th International Symposium on Recent Advances in Food Analyses, 2017. 11. 7–10., Prague, Czech Republic.
- [16] C. Sörös, B. Szijj, A. László, Hazai és import zöldség és gyümölcs termékek növényvédőszer-maradék elemző vizsgálata, *Óvári Tudományos Napok*, 2016. 11. 10.
- [17] M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajnbauer, F. J. Schenck, *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* (2003) 86 (2), 412–431.
- [18] SANTE/11945/2015 Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed.
- [19] A. Vass, Cs. Sörös, *Development of HPLC-MS methods for identification of triazole fungicide metabolites in fruits and vegetables*, 7th International Symposium on Recent Advances in Food Analyses, 2015. 11. 3–6., Prague, Czech Republic.