

A mikotoxin-analitikai módszerek fejlődése és alkalmazása – hagyományos és korszerű megközelítések az élelmiszerlánc-biztonság szolgálatában

Hamow Kamirán Áron  ^{1*} Párkányi Gábor²

¹ HUN-REN ATK Mezőgazdasági Intézet (MGI), Növényélettani és Metabolomikai Osztály, Martonvásár

² Mertcontrol Hungary Kft.

Összefoglalás

A mikotoxinok az élelmiszer- és takarmánylánc egyik legjelentősebb és legösszetettebb kémiai kockázati tényezők, amelyek magas toxikológiai jelentőségük, alacsony koncentrációjuk és kifejezett térbeli inhomogenitásuk miatt különösen nagy kihívást jelentenek a megbízható analitikai meghatározás számára. A mikotoxin-analízis érvényessége ezért nem kizárólag a korszerű műszeres módszerek teljesítményétől, hanem a teljes munkafolyamat – a mintavétel megtervezésétől a homogenizáláson és minta-előkészítéson át az adatértékelésig – integrált minőségétől és reprezentativitásától függ. Az elmúlt évtizedekben a folyadékkromatográfiával kapcsolt tandem és nagy felbontású tömegspektrometriai technikák, az izotóphígításos megközelítések, valamint a tanúsított referenciaanyagok és anyagminták alkalmazása jelentős előrelépést tett lehetővé a többkomponensű, nagy érzékenységű mikotoxin-meghatározás terén. Ugyanakkor mára egyértelművé vált, hogy a teljes mérési bizonytalanság döntő hányada a mintavételhez, a részmintavételhez és a homogenizáláshoz köthető, gyakran meghaladva a műszeres analízisből származó variabilitást. A fejezet integrált szemléletben tárgyalja a reprezentatív mikotoxin-analízist, összekapcsolva a Mintavétel Elméletének (Theory of Sampling, TOS) alapelveit, az uniós és nemzetközi szabályozási környezetet, valamint az ISO-alapú minőségbiztosítási és akkreditációs követelményeket a korszerű extrakciós, tisztítási és detektálási stratégiákkal. A klasszikus laboratóriumi módszerek mellett bemutatja az immunkémiai, spektroszkópiai, bioszenzoros és adatvezérelt megközelítések szerepét, valamint a jövőbeni irányokat. A fejezet egyszerre szolgál átfogó szakmai referenciaként és oktatási alapként kutatók, hallgatók, vizsgálólaboratóriumok, hatósági szakemberek és döntéshozók számára, támogatva a harmonizált, robusztus és jövőbiztos mikotoxin-monitoring rendszerek megértését, tervezését és gyakorlati alkalmazását.

Kulcsszavak: Mikotoxin-analitika, LC-MS/MS és HRMS-módszerek, Multimikotoxin-meghatározás, Mintavételi bizonytalanság és homogenizálás, Bioszenzorok élelmiszer-biztonsági alkalmazásokhoz

A tanulmányban szereplő rövidítések jegyzéke

- AAS • atomic absorption spectrometry (*atomabszorpció spektrószkópia*)
 ACN • acetonitrile (*acetonitril*)
 AF • aflatoxins (*aflatoxinok*) AFB₁ – aflatoxin B₁, AFB₂ – aflatoxin B₂, AFG₁ – aflatoxin G₁, AFG₂ – aflatoxin G₂, AFM₁ – aflatoxin M₁
 AI • artificial intelligence (*mesterséges intelligencia*)
 AOH • alternanin (*alternanin*)
 APCI • atmospheric pressure chemical ionisation (*atmoszférikus nyomású kémiai ionizáció*)
 ANOVA • analysis of variance (*variációanalízis*)
 α-ZEL • alpha zearalanol (*alfa zearalanol*)
 β-ZEL • beta zearalanol (*béta zearalanol*)
 BEA • beauvericin (*beauvericin*)
 CNN • convolutional neural network (*konvolúciós neurális háló*)
 CRM • Certified Reference Material (*hitelesített referenciaanyag*)
 d-SPE • dispersive solid phase extraction (*diszperz szilárd fázisú extrakció*)
 DON • deoxynivalenol (*deoxinivalenol*)
 DON-3G • deoxynivalenol-3-glucoside (*deoxinivalenol-3-glükózid*)
 EA • extraction solvent (*extrakciós oldat*)
 EI • electron ionization (*elektronütöztetési ionizáció*)
 ELISA • enzyme-linked immunosorbent assay (*enzimmel kapcsolt immunaffinitás-vizsgálat*)
 ENN (ENN-A, ENN-A1, ENN-B, ENN-B1) • enniatins (*enniatinok*)
 ESI • electrospray ionization (*elektroszpré-ionizáció*)
 ESI+ • positive electrospray ionization mode (*pozitív elektroszpré-ionizációs mód*)
 EU • European Union (*Európai Unió*)
 FAO • Food and Agriculture Organization of the United Nations (*Élelmiszerügyi és Mezőgazdasági Szervezet*)
 FB • fumonisins (*fumonizinek*): FB₁ – fumonisin B₁ (fumonizin B₁) FB₂ – fumonisin B₂ (fumonizin B₂), FB₃ – fumonisin B₃ (fumonizin B₃), FB₄ – fumonisin B₄ (fumonizin B₄)
 FLD • fluorescence based detectors (*fluoreszcens detektorok*)
 FTIR • Fourier-transform infrared spectroscopy (*Fouriertranszformációs infravörös spektroszkópia*)
 FTIR-ATR • Fourier-transform infrared spectroscopy with attenuated total reflectance (*Fouriertranszformációs infravörös spektroszkópia csillapított teljes visszaverődéssel*)
 FSE • Fundamental Sampling Error (*alapvető mintavételi hiba*)
 GC-MS/MS • gas chromatography – tandem mass spectrometry (*gázkromatográfia – tandem tömegspektrometria*)
 GCE • Group Characterization Error (*csoportjellemzési hiba*)
 HSI • hyperspectral imaging (*hiperspektrális képalkotás*)
 HPLC • high-performance liquid chromatography (*nagy hatékonyságú folyadékkromatográfia*)
 HRMS • high-resolution mass spectrometry (*nagy felbontású tömegspektrometria*)
 HS-SPME • headspace solid-phase microextraction (*gőztér – szilárd fázisú mikroextrakció*)
 HS-SPME-GC-MS • headspace solid-phase microextraction – gas chromatography – mass spectrometry (*gőztér – szilárd fázisú mikroextrakció – gázkromatográfia – tömegspektrometria*)
 IAC • immunoaffinity column (*immunaffinitás-tisztítási oszlop*)
 IDE • Increment Delimitation Error (*inkrementumhatárolási hiba*)
 IDMS • isotope dilution mass spectrometry (*izotóphígítási tömegspektrometria*)
 ISO • International Organization for Standardization (*Nemzetközi Szabványügyi Szervezet*)
 LC • liquid chromatography (*folyadékkromatográfia*)
 LC-HRMS • liquid chromatography–high-resolution mass spectrometry (*folyadékkromatográfia nagy felbontású tömegspektrometria*)

LC-MS/MS • liquid chromatography–tandem mass spectrometry (*folyadékkromatográfia – tandem tömegspektrometria*)
LFIA • lateral flow immunoassay (*laterális áramlású immundiagnosztikai teszt*)
LIMS • laboratory information management system (*laboratóriumi információkezelő rendszer*)
LOD • limit of detection (*kimutatási határ*)
LOQ • limit of quantification (*meghatározási határ*)
MeOH • methanol (*metanol*)
MIP • molecularly imprinted polymer (*molekuláris lenyomatú polimer*)
ML • Maximum Level – határérték, (maximum megengedett szint), illetve szövegkörnyezettől függően: ML • machine learning (*gépi tanulás*)
MON • moniliformin (*moniliformin*)
MRM • multiple reaction monitoring (*többszörös reakciócsatornák monitorozása*)
MS • mass spectrometry (*tömegspektrometria*)
NAH • National Accreditation Authority (*Nemzeti Akkreditáló Hatóság*)
NIR • near-infrared spectroscopy (*közeli infravörös spektroszkópia*)
NIV • nivalenol (*nivalenol*)
OTA • ochratoxin A (*ochratoxin A*)
OTB • ochratoxin B (*ochratoxin B*)
PAT • patulin (*patulin*)
PCA • principal component analysis (*főkomponens-analízis*)
PDMS/DVB • polydimethylsiloxane/divinylbenzene (*polidimetil-sziloxán/divinil-benzol*)
PLS-DA • partial least squares discriminant analysis (*részleges legkisebb négyzetes diszkriminanciaanalízis*)
PT • proficiency testing (*körmérés*)
QA/QC • quality assurance / quality control (*minőségbiztosítás / minőség-ellenőrzés*)
QqQ • triple quadrupole (*háromszoros kvadrupól tömegspektrométerek*)
QTOF • quadrupole time-of-flight mass spectrometry (*kvadrupól repülési idő tömegspektrometria*)
QuEChERS • Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (*gyors, egyszerű, olcsó, hatékony, robusztus és biztonságos extrakciós módszer*)
RSDr • relative standard deviation of repeatability (*ismétlőképesség relatív szórása*)
RSDR • relative standard deviation of reproducibility (*reprodukálhatóság relatív szórása*)
SANTE • European Commission guidance documents on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residue analysis (SANTE 11312/2021 v2.) and on identification of mycotoxins and plant toxins in food and feed (SANTE/12089/2016.)
SERS • surface-enhanced Raman spectroscopy (*felületfokozott Raman-spektroszkópia*)
SIM • selected ion monitoring (*szelektív ionmonitorozás*)
SPE • solid-phase extraction (*szilárd fázisú extrakció*)
SPR • surface plasmon resonance (*felületi plazmonrezonancia*)
SVM • support vector machine (*támogatott vektorgép*)
TeA • tenuazonic acid (*tenuazonsav*)
TIC • total ion chromatogram (*teljes ionkromatogram*)
TMS • trimethylsilyl derivatization (*trimetilszililszármazék-képzés*)
TOF • time-of-flight mass spectrometry (*repülési időn alapuló tömegspektrometria*)
TOS • Theory of Sampling (*mintavétel elmélete*)
U • measurement uncertainty (*mérési bizonytalanság*)
UPLC • Ultra performance liquid chromatography (*ultranagy hatékonyságú folyadékkromatográfia*)
VOC • volatile organic compounds (*illékony szerves vegyületek*)
VIP • variable importance in projection
ZEN • zearalenone (*zearalenon*)
ZEN-14G • zearalenone-14-glucoside (*zearalenon-14-glükozid*)

1. Bevezetés

A mikotoxinok a fonalas mikrogombák – elsősorban a *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* és *Claviceps* nemzetségek – toxikus másodlagos anyagcseretermékei, amelyek világszerte számos mezőgazdasági nyersanyag és élelmiszer jellegzetes szennyezői. E vegyületek hepatotoxikus, nefrotoxikus, immunszuppresszív, teratogén és karcinogén hatásai miatt már nyomnyi mennyiségű, krónikus expozíció is jelentős egészségügyi kockázatot hordoz emberben és állatban (AWUCHI ÉS MTSAL, 2021; AZAM ÉS MTSAL, 2021). A mikotoxinok jelenléte egyaránt befolyásolja a nyersanyagminőséget, a feldolgozott élelmiszerek és takarmányok biztonságát, valamint a nemzetközi kereskedelem feltételeit, ezért monitorozásuk és kockázatértékelésük régóta kiemelt feladat (FAO, 2001; FAO, 2006; EFSA, 2023). A toxintermelés az éghajlatváltozással összefüggésben is dinamikusan változik, ami felértékeli a precíz mintavételi stratégiák, a robusztus analitikai módszerek és a komplex kockázatmodellek szerepét (STOEY, 2024).

Az elmúlt másfél évtizedben a mikotoxin-analitika ugrásszerű fejlődésen ment keresztül. Az LC-MS/MS- és LC-HRMS-technikák térnyerése, az UPLC-rendszerek elterjedése, valamint az egyre fejlettebb QqQ- és HRMS-műszerek megjelenése lehetővé tette többkomponensű módszerek kialakítását, amelyek számos mikotoxin egyidejű, nagy érzékenységű meghatározását biztosítják. Ezzel párhuzamosan a multimátrixos eljárások, a „dilute-and-shoot” megközelítések, a módosított QuEChERS-extrakciók és tisztítási stratégiák, valamint az izotóphígításos tömegspektrometria (IDMS) és az elérhető hiteles referenciaanyagok körének bővülése jelentősen növelte az analitikai módszerek érzékenységét, szelektivitását és metrológiai nyomkövethetőségét (TURNER ÉS MTSAL, 2009; TURNER ÉS MTSAL, 2015; JANIK ÉS MTSAL, 2021; SALIM ÉS MTSAL, 2021; TITTELMIER ÉS MTSAL, 2024).

Mindeközben az immunkémiai szűrőmódszerek – így az ELISA és a laterális áramlású tesztek – továbbra is kulcsszerepet töltenek be a gyors kockázatbecslésben, miközben az aptameralapú, molekuláris lenyomatú polimer (MIP) technológiák, valamint az elektronikus orr rendszerek új lehetőségeket nyitottak a gyors, helyszíni alkalmazások számára (NOLAN ÉS MTSAL, 2019; WANG ÉS MTSAL, 2022; JIN ÉS MTSAL, 2023; STOEY, 2024).

A módszertani fejlődés két, egymást kiegészítő trendet egyesít: (i) a robusztus, ISO/IEC 17025:2017 alá tartozó akkreditált, nagy pontosságú laboratóriumi módszerek megszilárdulását, valamint (ii) az intelligens, miniaturizált, adatvezérelt bioszenzoros és prediktív technológiák gyors térnyerését (DHAKAL ÉS MTSAL, 2023; GBASHI ÉS JOBEH, 2024). Ez a hibrid megközelítés a kromatográfiás elválasztás és a tömegspektrometria pontosságát ötvözi a spektroszkópiai és immunkémiai módszerek gyorsaságával, valamint a mesterséges intelligencia által támogatott adatfeldolgozás lehetőségeivel, új perspektívát nyitva a mikotoxin-kockázat gyors és megbízható értékelésében.

Jelen fejezet célja, hogy átfogó képet adjon a mikotoxin-analitika fejlődéséről a klasszikus kromatográfiától az intelligens bioszenzorokig és prediktív modellezésig. Bemutatja a mintavétel, a minta-előkészítés és a módszervalidálás kritikus pontjait; részletezi az LC-MS/MS, LC-HRMS, ELISA, spektroszkópiai és bioszenzoros megközelítések előnyeit és korlátait; valamint áttekinti a minőségbiztosítás, a metrológiai nyomkövethetőség, a nemzeti akkreditáció és az EU-s (pl. (EU) 2023/915) szabályozási környezetet. E szintetizáló megközelítés iránytűként szolgál a kutatók és gyakorlati szakemberek számára harmonizált, robusztus és intelligens analitikai munkafolyamatok kialakításához.

2. Mikotoxinok: osztályozás, toxikológia és előfordulás

2.1. Áttekintés és biológiai eredet

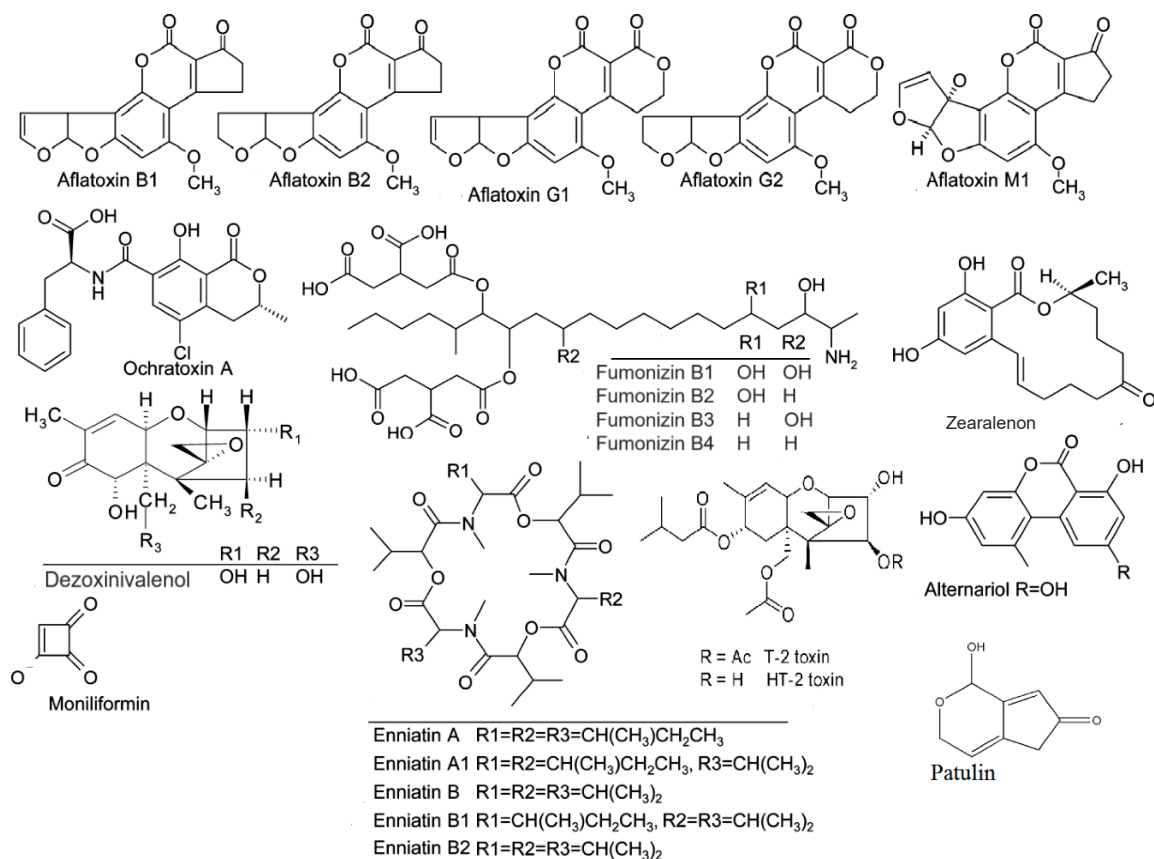
A mikotoxinok kémiai sokféle, alacsony molekulatömegű másodlagos fonalasgomba-metabolitok, amelyeket főként *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria* és *Claviceps* nemzetségek fajai termelnek. Képződésük a gomba genetikai adottságainak, a gazdanövény összetételének, valamint a környezeti tényezők – különösen a hőmérséklet, a páratartalom, a vízáktivitás és a tárolási körülmények – együttes hatásának eredménye (AGRIOPOULOU ÉS MTSAL, 2020). A szennyeződés a teljes élelmiszer- és takarmányláncban megjelenhet: a növények szántóföldi fertőzésétől (pl. virágzáskori *Fusarium*-fertőzés kalászosokban) a betakarításon, szárításon és tároláson át egészen a feldolgozott termékekig. Ez komoly globális problémát jelent az élelmiszer-biztonság, az állategészségügy és a nemzetközi kereskedelem szempontjából, különösen ott, ahol a klimatikus feltételek kedveznek a gombanövekedésnek, de a hatósági kontroll vagy az analitikai infrastruktúra korlátozott.

Jelenleg több mint 500 mikotoxint azonosítottak, de ezek közül csak egy részük rendelkezik jelentős toxikológiai és szabályozási relevanciával. A „klasszikus” fő csoportok közé tartoznak az aflatoxinok (AF), az ochratoxin A (OTA), a fumonizinek (FB), a zearalenon (ZEN), a különféle trichotecének (pl. dezoxinivalenol [DON], nivalenol [NIV], T-2 és HT-2 toxinok), valamint a patulin (PAT). Az utóbbi években fokozott figyelem irányul az úgynevezett „újjonnan megjelenő” mikotoxinokra is, mint az alternariol (AOH), az enniatinok (ENN-ek) és a beauvericin (BEA) (TITTELMIER ÉS MTSAL, 2025). Az éghajlatváltozás tovább bonyolítja a képet: egyes toxinok – például az aflatoxinok – ma már olyan földrajzi területeken is megjelennek, ahol korábban nem voltak jellemzők, míg a *Fusarium*-toxinok előfordulási mintázata is átrendeződhet. Ez tovább erősíti a megbízható, harmonizált analitikai módszerek és a jó minőségű adatokra épülő kockázatértékelés szerepét.

2.2. A mikotoxinok kémiai osztályai és szerkezeti jellemzőik

A mikotoxinok kémiai sokfélék: megtalálhatók közöttük poliketidek, aminosav-származékok és szeszkviterpének is, ennek megfelelően fizikai-kémiai tulajdonságaik – oldhatóság, sav-bázis karakter, stabilitás – széles skálán mozognak. Az aflatoxinok difurán-kumarin vázas poliaromás vegyületek, nagyfokú fotokémiai stabilitással; a trichotecének epoxidgyűrűje felelős a fehérjeszintézis-gátló hatásért. A zearalenon egy rezorcilsav-lakton szerkezetű molekula, kifejezetten ösztrogénhatással, míg a fumonizinek hosszú láncú aminopoliolok, amelyek a szfingolipid-anyagcserét gátolva idegrendszeri és fejlődési rendellenességekhez vezethetnek (KRSKA ÉS MTSAL, 2006). Az OTA klórozott izokumarin-származék, fenilalaninnal konjugálva, elsősorban vesekárosító potenciállal rendelkezik. A fő mikotoxinosztályok reprezentatív kémiai szerkezeteit az 1. ábra szemlélteti.

E szerkezeti sokféleség megértése nem pusztán elméleti kérdés: közvetlenül meghatározza, milyen extrakciós oldószerek és pH-tartományok alkalmazhatók, milyen kromatográfiás technika (LC, de egyes toxinoknál, akár GC) és módszer (oszlop, gradiens, mozgófázis) biztosítja az elválasztást. Tömegspektrometria esetén milyen ionizációs módok (EI, ESI, APCI; UniSpray™ ionforrások, pozitív/negatív polaritási módok) és detektálási stratégiák (LC-MS/MS, LC-HRMS) adnak kellő érzékenységet. Ugyanez a kémiai sokszínűség az újabb bioszenzoros rendszerek (aptamer-, MIP- és immunszenzorok) fejlesztésénél is meghatározó, mivel a kötőhelyek specificitását és az érzékelési mechanizmust is befolyásolja.



1. ábra. A fő mikotoxinosztályok reprezentatív kémiai szerkezetei

(Forrás: AGRIPOULOU ÉS MTSAL. [2020] nyomán)

2.3. Toxikológiai jelentőség

A mikotoxinok toxikológiai hatásai az akut mérgezéstől a krónikus, több szervrendszert érintő betegségekig terjednek. Az aflatoxinok, különösen az AFB₁, erősen hepatotoxikusak és karcinogének; az IARC az aflatoxin B₁-et az 1. csoportba („emberre bizonyítottan rákkeltő”) sorolja. Az OTA elsősorban nefrotoxikus, immunmoduláns és potenciálisan karcinogén (IARC 2B kategória). A fumonizinek (különösen FB₁) neuro- és hepatotoxikusak; állatkísérletekben velőcsőzáródási rendellenességeket és nyelőcsőrák-kockázatonövekedést figyeltek meg. A trichotecének – például DON, T-2 és HT-2 – a fehérjeszintézis gátlásán keresztül okoznak hányást, étvágytalanságot, emésztőszervi tüneteket és immunrendszeri gyengülést. A zearalenon kifejezetten ösztrogénhatású, így termékenységi zavarokat és reprodukciós problémákat idézhet elő, főként sertésben. A patulin genotoxikus és immunszuppresszív hatású, elsősorban almafélékben fordul elő.

Az emberi expozíció döntően az élelmiszerfogyasztáson keresztül történik: közvetlenül a szennyezett növényi eredetű élelmiszerek (gabonák, diófélék, fűszerek, aszalt gyümölcsök) révén, valamint közvetve állati eredetű termékek (tej, tojás, máj) fogyasztásával, amelyekben az eredeti toxin metabolitjai is megjelenhetnek (pl. AFM₁ a tejben). A krónikus, alacsony dózisú expozíció különösen a trópusi és szubtrópusi fejlődő régiókban jelent komoly kockázatot, ahol a klimatikus feltételek kedveznek a fonalas gombák növekedésének, ugyanakkor a tárolási körülmények és a hatósági ellenőrzés nem kielégítő. Epidemiológiai adatok szerint a koexpozíció – több mikotoxin egyidejű jelenléte – sokkal gyakoribb, mint az egyedi szennyeződés. Ez felveti az additív vagy szinergista hatások lehetőségét, és megkérdőjelezi a hagyományos „egy toxin – egy hatás – egy határérték” megközelítést (DASI-NAVARRO ÉS MTSAL., 2024; RAKK ÉS MTSAL., 2023).

Analitikai oldalról ez megerősíti a multitoxin LC–MS/MS- és HRMS-módszerek fontosságát, amelyek több tucat mikotoxin egyidejű meghatározását teszik lehetővé (LAPRIS ÉS MTSAL, 2024). A főbb szabályozott és újonnan megjelenő mikotoxinokat, azokat termelő gombákat, toxikológiai hatásukat és az egyes analitikai/szabályozási megjegyzéseket az 1. táblázat összegezi.

1. táblázat. A főbb szabályozott és újonnan megjelenő mikotoxinok, termelő gombák, toxikológiai hatások és analitikai/szabályozási megjegyzések

Mikotoxin csoport	Jellemző vegyületek	Fő termelő gombák	Fő toxikológiai hatások	Analitikai/szabályozási megjegyzések
Aflatoxinok	AFB ₁ , AFB ₂ , AFG ₁ , AFG ₂ , AFM ₁	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>	hepatotoxikus, karcinogén (IARC 1. csoport)	Szigorú határértékek (pl. 2 µg·kg ⁻¹ AFB ₁ gabonákban); LC–MS/MS, ELISA és bioszenzorok széles körben alkalmazottak (ABREU ÉS MTSAL, 2023; KIM ÉS MTSAL, 2023b).
Ochraoxinok	OTA, OTB	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Penicillium verrucosum</i>	nefrotoxikus, teratogén, immun-szuppresszív	Határérték 3–10 µg·kg ⁻¹ gabonában/kávéban; fluoreszcens HPLC, LC–MS/MS és SERS-alapú szenzorok (ZHAO ÉS MTSAL, 2024).
Fumonizinek	FB ₁ , FB ₂ , FB ₃ , FB ₄	<i>Fusarium verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i>	neuro- és hepatotoxikus; nyelőcsőrák kockázata	LC–MS/MS az elsődleges módszer; szabályozott (400–4000 µg·kg ⁻¹); hordozható szűrőmódszerek fejlesztés alatt (SARVER ÉS MTSAL, 2024).
Trichotecének	DON, NIV, T-2, HT-2	<i>F. graminearum</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. sporotrichioides</i>	fehérjeszintézis-gátlás, hányinger	GC–MS és LC–MS/MS validált módszerek; gépi tanulás a DON előrejelzésére búzában (FOMINA ÉS MTSAL, 2024).
Zearalenon	ZEN, α-ZEL, β-ZEL	<i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i>	ösztrogénhatás, reprodukciós zavarok	LC–MS/MS és HRMS a módosított formákra; hitelesített referenciaanyagok elérhetők (LIJALEM ÉS MTSAL, 2024).
Patulin	PAT	<i>Penicillium expansum</i> , <i>Byssoschlamys nivea</i>	genotoxikus, immun-szuppresszív	Szabályozott az almatermékekben; HPLC-FLD és UHPLC–MS validált módszerek (SADOK ÉS KRZYSZCZAK, 2023).
Újonnan megjelenő toxinok	ENN-ek, BEA, AOH, TeA, MON	<i>Fusarium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Monascus</i> fajok	citotoxikus, endokrin rendszert zavaró hatások	HRMS-alapú „suspect” szűrés; hivatalos határértékek még nincsenek (TITTELMIER ÉS MTSAL, 2025).

2.4. Új és „maszkolt” mikotoxinok

A modern HRMS- és metabolomikai kutatások feltárták, hogy a mikotoxinok gyakran konjugált vagy kötött („maszkolt”) formában is jelen vannak. Ezek a formák a növény vagy mikroorganizmus detoxifikációs reakciói során keletkeznek (pl. glükozid-, szulfát-, malonil-konjugátumok, illetve mátrixhoz kötött formák). A legismertebb példa a DON-3-glükozid, amely az emésztőrendszerben visszaalakulhat aktív DON-ná, így a tényleges expozíciót növeli (PASCARI ÉS MTSAL, 2023; VERRI HERNANDES ÉS WARTH, 2024).

Ezzel párhuzamosan az *Alternaria*, *Monascus*, *Cladosporium* és *Fusarium* fajok által termelt „újonnan megjelenő” mikotoxinok – mint az enniatinok, BEA, MON, AOH, TeA és AME – egyre gyakrabban bukkannak fel monitoringprogramokban. Ezek toxikológiai adatbázisa hiányos, határértékeik nincsenek, és referenciaanyagaik is korlátozottan elérhetők (ZHANG ÉS MTSAL, 2023a; GARRIDO-RODRÍGUEZ ÉS MTSAL, 2024; LIJALEM ÉS MTSAL, 2024). Fontos megemlíteni az acilezett fumonizinszármazékokat is (*N*-, valamint 5-*O*-palmitoil-, oleoil- és linoleoil-FB1 toxinok), amelyeket magyar kutatók (BARTÓK ÉS MTSAL, 2010, 2013) találtak meg *Fusarium verticillioides* gombával rizstenyésztésben történő szilárdfázisú fermentációt követően, és amelyek egyrészéről már kimutatták, hogy toxikusabbak, mint az FB1 toxin (CSENKI ÉS MTSAL, 2023). A jövő iránya a kiterjesztett, kumulatív kockázatértékelés, amely nemcsak a szabad, hanem a módosított formákat és az együttes expozíciót is figyelembe veszi (TITTELMIER ÉS MTSAL, 2025).

2.5. Összefoglalás

A mikotoxinok világa dinamikusan bővül: egyrészt nő a jól ismert, szabályozott toxinok köre, másrészt egyre több új és módosított forma válik ismertté, amelyek toxikológiai jelentősége csak részben ismert. A klasszikus toxinprofilok földrajzi újraeloszlása, a koexpozíció gyakorisága és a maszkolt formák megjelenése azt vetíti előre, hogy a jövőben a kumulatív és kombinált kockázatértékelés kerül előtérbe az egyszerű, egyedi határértékekkel szemben. Analitikai oldalról mindez komplex, nagy lefedettségű rendszerek alkalmazását igényli, amelyekben a multimikotoxin LC-MS/MS és HRMS-módszerek biztosítják a kvantitatív, jogérvényesítésre alkalmas méréseket, a gyors, terepi szűrőmódszerek (ELISA, LFIA, bioszenzorok) támogatják a döntéshozatalt, a minőségbiztosítási és akkreditációs keretek garantálják a megbízhatóságot és az összehasonlíthatóságot.

3. Szabályozási és minőségbiztosítási keretek

A mikotoxinokra vonatkozó szabályozás elsődleges célja, hogy az élelmiszerekkel és takarmányokkal történő expozíció toxikológiailag elfogadható tartományban maradjon, és az ehhez kapcsolódó analitikai eredmények tudományosan megalapozottak, laboratóriumok között összehasonlíthatók és metrológiailag nyomon követhetők legyenek. Nemzetközi szinten a Codex Alimentarius CXS 193–1995 dokumentuma rögzíti az élelmiszerekben előforduló szennyezőanyagokra vonatkozó általános elveket és több szennyező maximális szintjét (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2023). Az Európai Unióban az élelmiszerekre vonatkozó mikotoxin-határértékeket (ML) az (EU) 2023/915 rendelet határozza meg, amelyet a dezoxinivalenol (DON) tekintetében a (EU) 2024/1022, míg a T-2 és HT-2 toxinok vonatkozásában a (EU) 2024/1038 rendelet módosított. E jogszabályok összesen 11 mikotoxinokra vonatkozó maximális szintet (ML-paramétert) írnak elő különböző élelmiszer-kategóriákban, amelyek analitikai értelemben 19 különálló, kémiaiilag definiált mikotoxin-komponens megbízható meghatározását teszik szükségessé. A takarmányokra a 2002/32/EK irányelv vonatkozik (EURÓPAI BIZOTTSÁG, 2013). A mikotoxinok hatósági ellenőrzéséhez kapcsolódó ML-eket (EU) 2023/2782 rendelet részletezi.

A főbb minőségbiztosítási keretrendszereket az élelmiszerek, takarmányok esetén a mikotoxinok analíziséhez, mintavételéhez maximális szintjük stb. kapcsán a 2. táblázat összegezi.

2. táblázat. Fő QA- és szabályozási keretrendszerek mikotoxin-analízishez és ahhoz kapcsolódóan élelmiszerek és takarmányok kapcsán

Keretrendszer / szabvány	Hatókör	Fő paraméterek / kritériumok	Elfogadási tartományok	Hivatkozás
EU 2021/808/EK	Analitikai módszervalidálás	Szelektivitás, visszanyerés, precizitás, CC α , CC β	Visszanyerés 70–120%; RSD $\leq$ 20%	EUROPEAN COMMISSION (2021)
EU 401/2006	Mintavétel és analízis élelmiszerekben	Mintaméret, homogenitás, elfogadási kritériumok	Mátrixfüggő előírások	EUROPEAN COMMISSION (2006)
EU 2023/915	Maximális szintek szennyezőkre	mikotoxinok (és más szennyezők) ML-je különböző termékekben	Termék-specifikus határértékek	EUROPEAN COMMISSION (2023)
Codex CXS 193–1995	Globális standard szennyezőkre	ML-ek aflatoxinokra, OTA-ra, DON-ra, fumonizinekre, ZEN-re	Harmonizált ML-ek	CODEX ALIMENTARIUS (2023)
ISO/IEC 17025:2017	Laboratóriumi kompetencia	QA/QC rendszer, validálás, nyomon követhetőség	Akkreditációs megfelelés	ISO (2017)
ISO 24333:2009	Gabonák mintavétele	Reprezentatív mintavételi protokollok	–	ISO (2009)
AOAC 2016.04 & 2018.01	Validált módszerek	Pontosság, precizitás, robusztusság	Visszanyerés 70–125%	AOAC INTERNATIONAL
Eurachem Guide	Bizonytalanság becslése	Kombinált standard bizonytalanság kvantifikálása	Tipikus cél $U \leq 20\%$	EURACHEM (2012)

(Forrás: SORBO ÉS MTSAL. [2022]; ABREU ÉS MTSAL. [2023]; LIJALEM ÉS MTSAL. [2024]; ZHANG ÉS MTSAL. [2023b], valamint a felsorolt keretrendszerek és szabványok)

A mikotoxin-analitikai módszerek validálásának és minőségbiztosításának uniós kereteit a 2021/808/EK határozat az állati eredetű élelmiszerekben előforduló farmakológiailag aktív anyagok maradékainak analitikai teljesítménykövetelményeit szabályozza; mikotoxin-analízisre közvetlenül nem vonatkozik, ugyanakkor alapjai értékes útmutatások. A permetszermaradék-analitikában alkalmazott SANTE/11312/2021 v2026 és SANTE/2023/10612 dokumentumokon alapuló módszertanhoz kapcsolódóan a mikotoxinok egyes módszertani teljesítményének jellemzőit és az ezekre vonatkozó ajánlásokat a SANTE/12089/2016 útmutató tartalmazza. Ezek meghatározzák többek között a visszanyerés, a precizitás, az azonosítási kritériumok, az ionarányok és a mérési bizonytalanság elfogadható tartományait (SORBO ÉS MTSAL., 2022; ABREU ÉS MTSAL., 2023). A gyakorlatban ez azt jelenti, hogy a mikotoxin-meghatározásra alkalmazott módszerektől jellemzően 70–120% közötti visszanyerést, RSD $r \leq 15\%$ ismételhetőséget, RSD $r \leq 20\%$ reprodukálhatóságot és $U \leq 20\%$ kiterjesztett mérési bizonytalanságot várnak el, különösen a határérték-közei koncentrációtartományban (EURACHEM/CITAC, 2012). Az analitikai kiválóság ugyanakkor nem kizárólag a teljesítménymutatókon múlik, hanem azon is, hogy a laboratórium működése

menyiben felel meg a nemzetközi minőségirányítási elveknek. Ezt az ISO/IEC 17025:2017 szabvány rögzíti, amely a vizsgáló laboratóriumok kompetenciakövetelményeit, a QA/QC-rendszer fő elemeit, valamint a módszervalidálás, a kalibrálás és a metrológiai nyomkövethetőség elvárásait írja le. Magyarországon ezen követelmények teljesítését a Nemzeti Akkreditáló Hatóság (NAH) felügyeli; a NAH az Európai Akkreditációs Együttműködés (EA) és az ILAC-MRA nemzetközi megállapodások tagjaként biztosítja, hogy a hazai laboratóriumi eredmények nemzetközileg elismertek és más országok adataival összevethetők legyenek.

A minőségbiztosítás gyakorlati pillérét a tanúsított referenciaanyagok (CRM-ek), az izotópos hígításos LC-MS/MS-módszerek és a rendszeres körvizsgálatok adják. A CRM-ek és mátrixillesztett kalibrációs standardok, valamint a ^{13}C -jelzett belső standardok alkalmazása jelentősen javítja a kvantitatív meghatározások pontosságát és a laboratóriumok közötti összehasonlíthatóságot (ZHANG ÉS MTSAL, 2023a). Napjainkban egyre inkább elvárás, hogy a referenciaanyagok ISO 17034:2016 szabvány szerint akkreditált gyártótól származzanak. Az EURL-Mycotoxins és a FA-PAS által szervezett körvizsgálatokban való részvétel folyamatos visszajelzést nyújt a módszerek reprodukálhatóságáról és a hazai laboratóriumi hálózat nemzetközi teljesítményéről. A szabályozás fejlődése arra utal, hogy az Európai Unió a jövőben egyre nagyobb figyelmet fordít a módosított vagy maszkolt toxinformák – például a DON-3-glükózid – expozícióhoz való hozzájárulásának értékelésére, amelyeket jelenleg elsősorban kockázatértékelési és monitoring szinten vesznek figyelembe. Ennek megfelelően a modern QA- és validálási keretrendszerek már nemcsak a „klasszikus” szabad toxinokra, hanem a teljes, biológiailag releváns expozíció minél pontosabb megragadására törekednek.

4. Mintavételi és minta-előkészítési stratégiák

4.0. Alapfogalmak

A mikotoxin-analízisben kulcsfontosságú a mintavételi alapfogalmak pontos ismerete a megbízható és reprezentatív eredmények eléréséhez.

- *Mintavételi egység* • A tétel adott mintavételi szabványban meghatározott azon része, amelyből az átlagmintát képezzük, például: sík raktár esetén 500 tonna, siló estén 1 cella vagy torony.
- *Mintavétel* • Azon műveletek összessége, amellyel a részmintát a vizsgálandó tételből elkülönítjük.
- *Részminta* • A mintavevő eszköz által a tétel egy pontjából (1-1 leszúrásból) egy adott időben (siló gépi mintázása esetén a folyamatosan keletkező minta) vett minta.
- *Átlagminta* • A részminták átlagolásából (mintaosztóval) képzett minta, általában mintavételi egységenként 3 (4) db 4 kg-os minta = 1 sorozat. A labor és letéti minták összessége, amely a tételt külön-külön is reprezentálja.
- *Laborminta* • A részminták összekeverése, és mintaosztóval történő leosztása után keletkező azon minta, amely a tétel minőségét és állapotát reprezentálja, és a laboratóriumba vizsgálatra szánják.
- *Ellen- vagy letéti minta* • A részminták összekeverése és mintaosztóval történő leosztása után keletkező azon minta, amely a tétel minőségét és állapotát reprezentálja, és a mintatárban megfelelően és azonosíthatóan tárolt, ellenőrzésre bármikor felhasználható mintarészlet.

4.1. A mintavétel és minta-előkészítés fontossága

A mikotoxin-vizsgálatok megbízhatóságát a gyakorlatban sokszor a műszeres módszerek teljesítményével azonosítjuk, pedig a teljes mérési bizonytalanság jelentős része már jóval az LC-MS/MS, ELISA vagy más detektálási lépés előtt, a mintavétel és a minta-előkészítés szakaszában dől el. Számos elemzés szerint a mikotoxin-analízis összesített bizonytalanságának akár 60–80%-a is a mintavételi hibákból származik, nem pedig a műszeres variabilitásból (ESBENSEN, 2020; SORBO ÉS MTSAL, 2022).

Ennek alapvető oka, hogy a mikotoxinok jellegzetesen inhomogén módon oszlanak el az ömlesztett anyagokban: egy silóban tárolt kukorica- vagy búzatétel nagy részében alig mérhető szennyezettség lehet, miközben kisebb „forró pontokban” nagyságrendekkel magasabb koncentráció jelenik meg (CHELI ÉS MTSAL, 2009; KRSKA ÉS MTSAL, 2006). A mintavétel feladata ezért az, hogy ezt a térbeli heterogenitást statisztikailag „lesimítsa”, és olyan laboratóriumi próbamintákat biztosítson, amelyek a teljes tételt megfelelően reprezentálják.

A mikotoxinok vizsgálata során a vizsgálat bizonytalanságát döntően a mintavétel határozza meg, ugyanis a terményeken/terményekben a toxinok eloszlása nagyon heterogén. Az analitikai meghatározás szempontjából az átlagminták megfelelő homogenizálása nagyon fontos. A minták szemcseméretének 1 mm-nél kisebbnek kell lennie, hogy megfelelő homogenitást lehessen elérni a darált minták kevertetése során, illetve a megfelelő extrakciós hatások eléréséhez.

Reprezentatív mintavétel

A mintavétel során a reprezentativitás kulcsfontosságú. Egy 500 tonnás tételből mindössze 10 kg-os minta (0,002%) kerül kivételre. Ez a 10 kg minta a laboratóriumban további mintaosztáson esik át, melynek során 50 g-os részminta (az eredeti 10 kg-nak 0,5%-a) képződik. Végül az analitikai előkészítés során ebből az 50 g-ból mindössze 5 mg (az eredeti 500 tonnának 0,01%-a) kerül tényleges vizsgálatra. Ez az eredeti mennyiség arányában (500 t / 5 mg) egy elképesztően kis frakciót jelent: 5 mg / 500 000 000 000 mg, azaz 10^{-11} rész. Ebből adódóan egy 5 ppb-s ($5 \text{ ng g}^{-1} = 5 \text{ pg/mg}$) koncentráció esetén 25 pg az 500 t-hoz képest, ami $5 \times 10^{-16}\%$ -ot jelent.

A „ppb” probléma

A mikotoxinok jelentős humán és állategészségi problémákat okozhatnak már alacsony, akár ppb (part-per-billion, milliárdad rész, $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) koncentrációban is. A ppb-nagyságrend szemléltetése:

1 egység az 1,000,000,000-ból

- 1 másodperc 32 évben
- 1 szem homok 22 kg-ból
- 1 kukoricaszem 3,5 vasúti kocsik kukoricából.

Minőség és állag – a heterogenitás forrásai

A mikotoxinok eloszlása nemcsak mennyiségi, hanem minőségi szempontból is heterogén. Fontos figyelembe venni az alábbiakat:

- vertikális rétegződés (pl. szermaradványok),
- horizontális rétegek (pl. GMO),
- fizikai paraméterek osztályozódása (kukorica törött szem, közepe, teteje),
- kémiai paraméterek eloszlása (pl. esésszám),
- nem homogén eloszlású minőségi problémák (pl. toxin, szermaradvány),
- átlagminták reprezentatív jellege (mintavételi alap, növekmény stb.),
- foszfin (gázkoncentráció).

Mindezek miatt minden rétegből és nagy gyakoriságú mintavételre van szükség a reprezentativitás biztosításához.

A mintavétel elméleti alapját ESBENSEN (2020) által továbbfejlesztett Mintavétel Elmélete (Theory of Sampling, TOS) adja. Ez az elmélet rávilágít arra, hogy a mintavételi hibák több, egymásra épülő komponensből állnak: a részecskék heterogenitásából fakadó alaphiba, a különböző méretű vagy sűrűségű részecskékből eredő csoportosulási és szegregációs hiba, illetve az inkrementumok helytelen kijelöléséből adódó hibák együtt határozzák meg, mennyire tekinthető reprezentatívnak egy végső laboratóriumi minta. Ha ezek közül bármelyiket elhanyagoljuk, a legkorszerűbb LC-MS/MS- vagy HRMS-rendszer is csak „precízen” fog mérni egy rosszul vett mintát.

A mintavétel kockázata

A nem megfelelő mintavétel két fő kockázatot rejt magában:

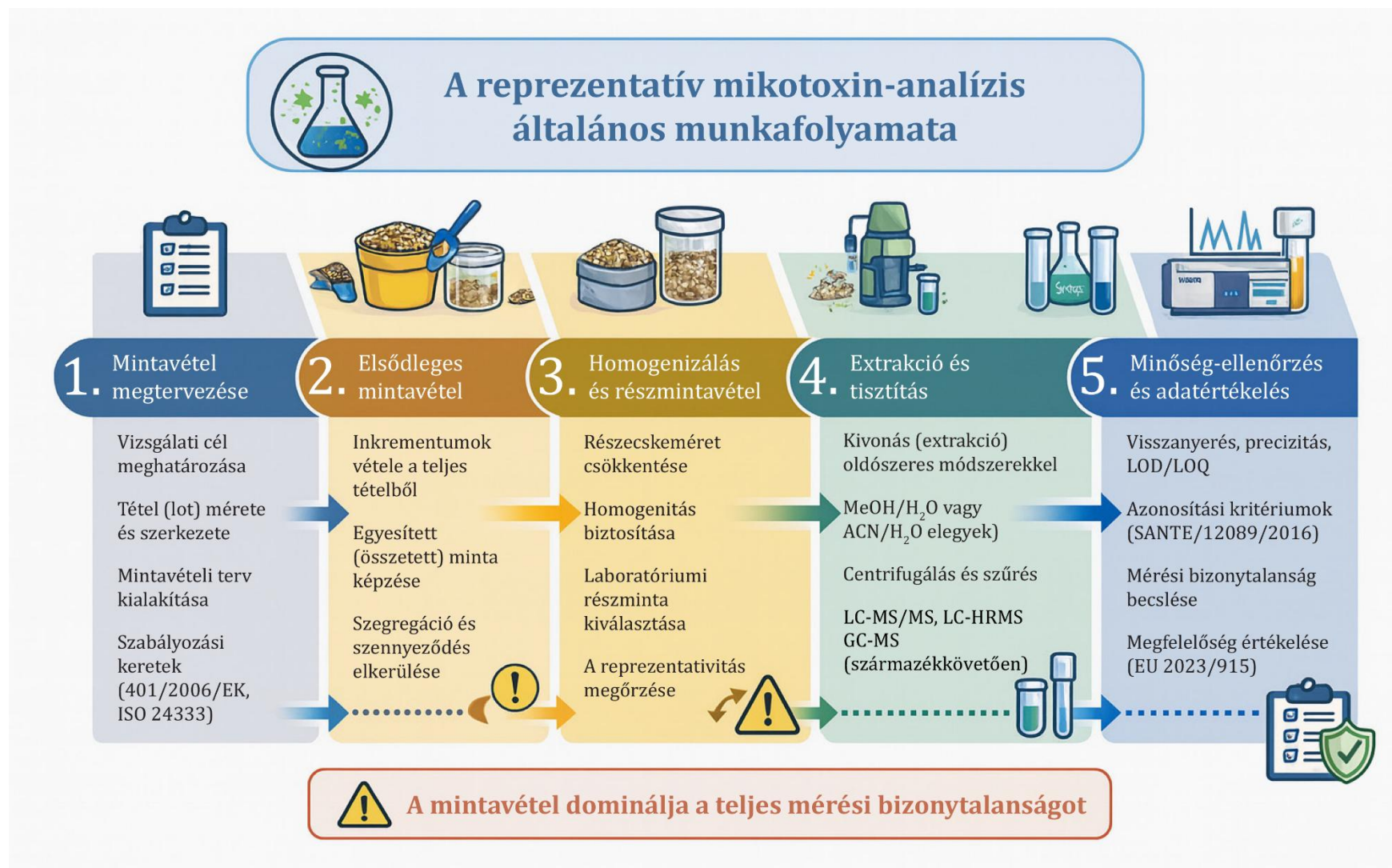
- Felülbecslés: a jó tételt visszautasítjuk magas érték miatt, annak ellenére, hogy az valójában megfelelő, ez álpozitív.
- Alulbecslés: a rossz tételt elfogadjuk annak ellenére, hogy az valójában magas értéket tartalmaz, ez álnegatív. Ezek a kockázatok kiemelik a pontos és reprezentatív mintavétel elengedhetetlen szerepét a megbízható analitikai eredményekhez.

A 2. ábra a reprezentatív mikotoxin-analízis általános munkafolyamatát szemlélteti.

4.2. Mintavételi stratégiák és a mintavétel elmélete (Theory of Sampling, TOS)

Az Európai Unióban a mikotoxinok mintavételét, minta-előkészítését, és az elfogadási kritériumokat a 401/2006/EK rendelet szabályozza, amely részletes előírásokat adott különböző élelmiszer-mátrixokra – például gabonákra, diófélékre, aszalt gyümölcsökre, fűszerekre és bébitelekre – vonatkozóan. Azóta módosítások voltak a rendelet kapcsán, ám még mindig érvényes. Az (EU) 2023/2782 bizottsági rendelet az (EU) 2023/915 rendeletet módosítja, kizárólag az egyes szennyezőkre vonatkozó maximális szintek pontosítása és frissítése céljából, különösen az újabb toxinokra (EURÓPAI BIZOTTSÁG, 2006; 2023).

A jogszabályok meghatározzák az elemi minták számát a tétel tömegének függvényében, az összetett (aggregált) minta minimális tömegét, a mintacsökkentés és homogenizálás módját, valamint a dokumentálás és nyomon követhetőség követelményeit. Egy tipikus példa: egy mintegy 50 tonnás gabonátétel esetén legalább 100 elemi mintát kell venni, amelyek együttesen körülbelül 10–20 kg összmintát adnak. Ezt az összetett mintát ezután laboratóriumi körülmények között csökkentik és homogenizálják tovább (EURÓPAI BIZOTTSÁG, 2006; ISO 24333:2009). A szabványos eljárások hangsúlyozzák, hogy a mintavételi tervnek nemcsak a tétel tömegét, hanem annak fizikai elrendezését is figyelembe kell vennie: más stratégiát igényel egy ömlesztve tárolt gabona, egy zsákolt készlet vagy egy tartálykocsiban szállított liszt. A Codex Alimentarius vonatkozó irányelvei (CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, 2023) ugyanezt a logikát követik, globális szinten segítve a mintavételi gyakorlatok harmonizációját.



2. ábra. A tereptől a műszerig – a reprezentatív mikotoxin-analízis általános munkafolyamata

(Forrás: az EC 401/2006/EK rendelet, az ISO 24333:2009 és ESBENSEN [2020] nyomán)

4.2.1. Mintavételre vonatkozó általános előírások

A mintavételi eljárások során az alábbi általános előírásokat szükséges betartani:

- A mintavevő eszköz (stekker) tiszta, száraz és jól működő legyen.
- A mintavétel mindig a terményhalom vizuális, érzékszervi (szín, szag, állag, rovar) ellenőrzésével kezdődik.
- A síkraktárban általában 500 tonnánként (vagy a megbízásban leírtak szerint) 1 sorozat (4 x 4kg) átlagmintát készítünk, amelyet legalább 30 leszúrásból vett részminták átlagolásából, mintaosztóval képzünk. 500 tonnánál nagyobb mennyiség esetén képzeletben osztjuk fel az adott garmadát 500 tonnánkénti egységekre. Amennyiben lehetséges, minden rétegből kell mintát venni. 2,5-3 méter halom magasság felett javasolt a gépi mintavétel.
- A silótornyok, -cellák esetén vagy gépi mintavevővel vagy áthúzatással (húztatás ideje mennyiségtől függően 0,5-1,5 óra) végezzük a mintavételt.
- A szállítójárművek (kamion, vagon, hajó) esetén háromtonnánként legalább egy leszúrást szükséges. Megrakott kamionból tehát minimum nyolc helyről. Általában rakottan, kirakodásra érkező vagon, hajó ritkán van Magyarországon, mivel főleg ezen járművekkel exportra megy az áru. Vagon, hajó rakodása esetén a rakodás ideje alatt a rakodás folyamatában, minél gyakrabban vegyünk a részmintákat.
- A vett részminták összekeverése után mintaosztóval készítsük az átlagmintákat.
- A mintadobozt tele, a mintazacskót a rajta lévő címke tetejéig kell tölteni.

Síkraktárban történő mintavétel

A mintavétel helyének megtervezése síkraktárban kulcsfontosságú. A tételt (halom) a megbízásban szereplő mintavételi szabványnak megfelelően osszuk fel, általában 500 tonnás mintavételi egységekre. Használjuk az égtájakat és az oszlopokat támpontként a felosztáshoz, és a jegyzőkönyvi rajzon számmal nevezzük el az egyes tételeket, amely egyben a minták elnevezése is lesz! Jegyzőkönyvön rajzzal rögzítsük, honnan vesszük a mintát, ha a halom csak egy részére szól a megbízás. A mintavétel során mindig a tőlünk legtávolabb eső résztől érdemes haladni kifelé. 500 tonnánként legalább 30 helyről vegyünk részmintát, amelyek együttes tömegének legalább 25-30 kg-nak kell lennie. Ebből lehet megfelelően keverve, homogenizálás után mintaosztóval gabona esetén 6 db 4 kg-os, olajmag esetén 4 db 4 kg-os átlagmintát készíteni.

- Kézi mintavétel: 2,5 m átlagos halommagasság alatt, stekkerrel.
- Gépi mintavétel: 2,5 m átlagos halommagasság felett, vákuumos mintavevő eszközzel.

Silóban történő mintavétel

- Húztatással: A húztatás ideje mennyiségtől függően 0,5-1,5 óra. Ez idő alatt vett 25-30 db részmintából homogenizálás után készítsük a 4 db 4 kg-os (gabona esetén 6 db 4 kg-os) átlagmintát.
- Gépi mintavétellel: Vasbeton siló esetén általában 1 db mintavételi pont van a silócella tetején lévő ajtóból adódóan, míg fémsiló esetén, az átmérőtől függően több ponton (3-5 ponton) vegyünk a mintát. Munkavédelem szempontjából (a porrobbanást elkerülendő) a mintavevőcső mindig legyen egy fémhuzallal összekötve, letestelve a siló valamely fémes részével.

Kamionos áruszállítás esetén történő mintavétel

A kamionokból történő mintavétel specifikus szabályok szerint történik, amelyek az alábbiakat várják el:

- 15 tonnáig legalább öt mintavételi pont és 15–30 tonnás szállító járművek esetében legalább 8 mintavételi pont,
- érzékszervi vizsgálat,
- nedvességtartalom-ellenőrzés,
- beltartalom meghatározása (szerződés szerint),
- tisztaság vizsgálata (szerződés szerint),
- mintakészítés.

Az aratás utáni, de raktározás előtti mintavétel céljai

- előzetes minősítés az árurol,
- későbbi folyamatok erre épülnek (analízis, tanúsítvány kiállítása),
- nem mindig reprodukálható (szállítás, feldolgozás),
- állaghibák felfedése,
- reprezentatív minta a tételről,
- minden réteg ellenőrzése,
- beltartalom meghatározása,
- nemkívánatos anyagok kiszűrése (toxin, szermaradvány, GMO),
- nyomon követés, utólagos ellenőrzések.

4.2.2. Akkreditált mintavételi módszerek és szabványok

A fentebb említett általános mintavételi eljárásoktól az egyes szabványokban meghatározott akkreditált mintavételi módszereket a 3. táblázat foglalja össze.

3. táblázat. A mintavételi szabványok és vonatkozó mintavételi egység, rész- és átlagmintaszám tekintetében

Mintavételi szabványok	Mintavételi egység (tonna)	Részmintaszám (darab)	Átlagminta (db/kg)
GAFTA 124 Gabonafélék mintavétele	500 t (0–5 000 t)	min. 30 db/500 t	10 kg
MSZ EN ISO 24333:2010 (ISO 13690) Gabonafélék mintavétele (kézi < 2,5 m < gépi)	500 t alatt (500–1 500 t)	500 t alatt min. 30 db; 500–1 500 t min. 30 db	6 × 4 kg
MSZ 6367-1:1983 – Élelmezési, takarmányozási, ipari magvak és hántolt termények vizsgálata. Előkészítés és mintavétel	tétel egészére	1 db / 5 t	6 × 4 kg/tétel
MSZ EN ISO 6497:2005 Takarmányok mintavétele	500 t	min. 60 db/500 t;	6 × 4 kg/500 t
GMP+	tétel egészére	500 t alatt 100 db; 500 t felett = 100 + $\sqrt{\text{tétel mennyisége}}$	8 × 4 kg/tétel
FOSFA / MSZ EN ISO 21294:2017 Olajos magvak mintavétele	500 t (0–5 000 t)	min. 30 db/500 t	4 × 4 kg
MSZ ISO 5500:1992 Olajmagdarák mintavétele	500 t (0–5 000 t)	min. 30 db/500 t	4 × 4 kg

Mintavételi szabványok	Mintavételi egység (tonna)	Rézmintaszám (darab)	Átlagminta (db/kg)
MSZ ISO 5555:2001 Állati és növényi zsírok és olajok mintavétele	tartályból: 500 t; csővezeték-ből: 10 t	tartályból: 300 mm rétegenként; csővezeték-ből: -	2 × 1 kg
MSZ CEN/TS 15568/2007 (ISO 13690) GMO	500 t alatt (500 - 1.500 t)	500 t alatt min. 30 db; 500–1 500 t min. 30 db	6 × 4 kg
401/2006 EK r. Élelmiszerek toxintartalmához mintavétel	tétel egészére	50 t felett min. 100 db	10 kg

(Forrás: MERCTCONTROL HUNGARY, 2025)

A TOS elveit nemcsak élelmiszerek, hanem talaj- és környezeti minták esetében is alkalmazzák. Az TOS-elméletre épülő, módosított protokollok és terepi vizsgálatok azt mutatják, hogy például a forgóosztóval (rotary splitter) végzett mintacsökkentés a hagyományos „kúp- és negyedeléses” eljáráshoz képest akár 50%-kal csökkentheti a mintavételi varianciát (GERLACH ÉS MTSAL, 2002; ESBENSEN, 2020). Ez különösen akkor fontos, amikor a mérés célja határérték-közelbeli megfelelés elbírálása; ilyen esetekben ugyanis a mintavételi bizonytalanság domináns tényezővé válhat.

4.2.3. Mintavételhez szükséges tárgyi feltételek és eszközök

A mintavételi eljárásokhoz az alábbi eszközök szükségesek:

- mintavételi stekker, botszúrcsap (változó hosszúságban, minden rétegből),
- kúpstekker (változó hosszúságban, egy adott rétegből),
- vákuumos mintavételi szett,
- szúrcsap (zsákos kiszerelés, darabáru stb.),
- bogárrosta (kukorica, búza, repce),
- rostasorozat (tisztaság, keverékesség),
- nedvességmérő (tájékoztató jellegű),
- mintaosztó,
- mintazacskó (duplafalu papírzacskó, nylon, vászon, műanyag doboz),
- mintazárás (plombálás).

4.3. Homogenizálás és szemcseméret-csökkentés

A primer mintavétel után a homogenizálás jelenti az első kritikus laboratóriumi lépést. A mikotoxinok gyakran nem egyenletesen, hanem a gabonaszemek maghéjában, csírájában vagy mechanikailag sérült zónákban dúsulnak, vagyis a „toxinszennyezett” részecskék aránya már mikroszinten is eltérő lehet (CHELI ÉS MTSAL, 2009; ZHANG ÉS MTSAL, 2023b). Ha a minta őrlése túl durva vagy egyenetlen, az ebből vett alminták eltérő szennyezettségi szintet fognak mutatni, pusztán fizikai okok miatt. Mikotoxin-analitikában ezért általános ajánlás, hogy a laboratóriumi mintákat legálább 1 mm, sok esetben inkább 0,5–1 mm közötti szemcseméretre őröljék az extrakció előtt.

A korszerű malomrendszerek – kalapácsos, tárcsás, golyós vagy szükség esetén kriogén malmok – célja, hogy ezt az aprítást kontrollált hőterhelés mellett végezzék, minimalizálva a hőérzékeny toxinok (például patulin, bizonyos trichotecének) esetleges degradációját (AGRIPOULOU ÉS MTSAL, 2020). A homogenizálás hatékonyságát tipikusan úgy ellenőrzik, hogy a homogenizált mintából több párhuzamos részletmintát vesznek, majd ezeket azonos módszerrel elemzik. Ha az eredmények relatív szórása (RSD) 15% alatt marad, az általában megfelelő homogenitást jelez mikotoxin-vizsgálatban, különösen olyan szinteknél, ahol a határérték-megfelelés a kérdés (ESBENSEN, 2020; LIJALEM ÉS MTSAL, 2024).

Ezen a ponton jön létre az a laboratóriumi „alpminta”, amelyből a tényleges analitikai részletmintákat (tesztadagokat) kiemelik. Ezek mennyisége módszertől függően jellemzően néhány gramm, LC-MS/MS esetén gyakran 1–5 gramm. A mátrix jellegétől függően további előkezelésre is szükség lehet. Zsíros, olajos magvakat tartalmazó mintáknál például gyakran alkalmaznak hexános vagy petroléteres „zsírtalanítást” az extrakció előtt, hogy csökkentsék a koextrahált lipidek mennyiségét és a mátrixhatást. Magas víztartalmú élelmiszereknél vagy takarmányoknál – például gyümölcsalapú termékeknél, nedves TMR-takarmányoknál – előnyös lehet a fagyasztás, majd fagyasztva szárítás (liofilizálás), amely egyrészt stabilizálja a toxinterhelést, másrészt könnyebben őrlhető, porított mátrixot eredményez (AGRIOPOULOU ÉS MTSAL, 2020; PASCARI ÉS MTSAL, 2023).

4.4. Mintatárolás, stabilitás és izotópos belső standardok

A minták tárolása során az a kulcskérdés, hogy a mintavétel pillanatában fennálló toxinkoncentráció mennyire marad változatlan a vizsgálat időpontjáig. A mikotoxinok többsége kémiaiilag viszonylag stabil, de ez a stabilitás erősen függ a mátrixtól, a hőmérséklettől, a nedvességtartalomtól és az oxigén jelenlététől. A gyakorlatban ezért a laboratóriumi mintákat légmentesen zárható, lehetőleg fényzáró edényekben, hűtve vagy fagyasztva tárolják. Rövid távú, néhány hetes tároláshoz általában elegendő a 4 °C körüli hűtés, hosszabb távú tárolásnál vagy körvizsgálati mintáknál viszont gyakran alkalmaznak liofilizálást és –20 °C vagy annál alacsonyabb hőmérsékletet (LIJALEM ÉS MTSAL, 2024). Az aflatoxinok, fumonizinek és ochraoxin A tartósan száraz, hűvös és sötét körülmények között általában jól stabilizálhatók, míg egyes trichotecének és a patulin érzékenyebbek a fényre, hőre és oxidatív körülményekre (AGRIOPOULOU ÉS MTSAL, 2020). Újabb vizsgálatok arra is rámutattak, hogy például a zearalenon és származékai hosszabb, nem optimális tárolás során oxidatív degradáción mehetnek keresztül, ami a kimutatott koncentráció csökkenését vagy átrendeződését okozhatja (PASCARI ÉS MTSAL, 2023).

A tárolás és a minta-előkészítés során fellépő veszteségek és átalakulások korrigálására ma már széles körben alkalmaznak izotóposan jelölt belső standardokat. A ^{13}C - vagy deutériumjelzett analógok – például $^{13}\text{C}_{15}$ -DON vagy $^{13}\text{C}_{18}$ -ZEN – ugyanazokon a kémiai lépéseken mennek keresztül, mint a natív toxinok, így a jel-/zajarány, a visszanyerés és a mátrixhatás szempontjából is lehetővé teszik a folyamatos korrekciót (RAKK ÉS MTSAL, 2023; ZHANG ÉS MTSAL, 2023a). Ez különösen fontos olyan vizsgálatoknál, ahol nagyon alacsony, határérték-közelbeli szinteket vagy több mikotoxint egyszerre kvantifikálnak.

4.5. A mintavételi bizonytalanság kezelése

Az akkreditált laboratóriumok esetében az ISO/IEC 17025:2017 és az Eurachem/CITAC útmutatói ma már elvárják, hogy a módszerekhez hozzárendelt mérési bizonytalanság kifejezetten tartalmazza a mintavételből származó bizonytalanságot is (EURACHEM, 2012; ABREU ÉS MTSAL, 2023). Ez a gyakorlatban azt jelenti, hogy nem elegendő csupán az LC-MS/MS ismételhetőségéből vagy a kalibrációs görbe hibájából kiindulni, hanem a mintavételi lépéseket is kvantitatívan értékelni kell.

A mintavételi bizonytalanság becslésére több módszert is alkalmaznak. A duplikát módszer lényege, hogy ugyanabból a tételből két független mintavételt végeznek, és a két eredmény közötti eltérésből számolják ki a mintavételi varianciát. Az ISO 21748 és az Eurachem-útmutató modellalapú megközelítést is kínál a különböző bizonytalansági komponensek – mint a kalibráció, a visszanyerés, a precizitás és a mintavétel – kombinálására (EURACHEM, 2012). Több-laboratóriumos vizsgálatok, például JEDZINIAK ÉS MTSAL. (2023) elemzése egyértelműen azt mutatta, hogy ha a mintavételi varianciát figyelmen kívül hagyják, a teljes bizonytalanság akár tízszeres alábecslése is

előfordulhat, különösen heterogén gabonatételek esetén. A modern statisztikai megközelítések – például a Bayes-féle modellezés vagy a Monte Carlo-szimulációk – lehetővé teszik a mintavételi és analitikai variancia együttes terjedésének szimulációját. Így a határérték-megfelelésről hozott döntésekhez nem egyszerű „igen/nem” típusú eredmények, hanem valószínűségi információval alátámasztott konfidenciaintervallumok társíthatók (TITTELMIER ÉS MTSAL, 2025). Ez különösen fontos olyan esetekben, amikor egy tétel mért értéke nagyon közel esik a jogszabályban rögzített maximális szinthez.

4.6. Minta-előkészítés és módszerteljesítmény

A minta-előkészítés – őrlés, extrakció, tisztítás, hígítás – szorosan összefonódik a módszer validálási paramétereivel. A szelektivitás, visszanyerés, ismételhetőség, LOQ és mérési bizonytalanság valójában nemcsak az LC-MS/MS beállításain múlik, hanem azon is, hogyan bánunk a mintával attól a pillanattól kezdve, hogy a laborba érkezik. A visszanyerés vizsgálata tipikusan úgy történik, hogy egy lehetőleg mikotoxinmentes vagy nagyon alacsony szennyezésű, homogenizált mátrixhoz ismert mennyiségű toxint adagolnak, majd a teljes mintavételi és minta-előkészítési lépést – extrakciót, tisztítást és mérést – végigvizsgálják. A visszamért koncentráció és az elméletileg hozzáadott mennyiség aránya adja meg a százalékos visszanyerést, amely EU-s útmutatók szerint általában 70–120% közötti tartományban tekinthető elfogadhatónak mikotoxinok esetében. Ez a paraméter egyrészt a minta-előkészítés, másrészt a módszer teljesítményének központi mutatója. A kvantitatív LC-MS/MS-meghatározás megköveteli, hogy a kalibrációs görbéket lehetőleg mátrixillesztett standardokkal állítsák elő, vagy megfelelő izotópos belső standardokat alkalmazzanak. Ehhez olyan „blank” vagy közel blank mátrixra van szükség, amelyben a célmikotoxinok szintje elhanyagolható, így a hozzáadott mennyiség és a mért jel direkt módon összekapcsolható (ZHANG ÉS MTSAL, 2023a,b; LIJALEM ÉS MTSAL, 2024). A minta-előkészítés megfelelősége tehát nemcsak a labor technikai rutinja, hanem közvetlenül beágyazódik a validálási dokumentációba is.

4.7. Intelligens mintavételi rendszerek és jövőbeli irányok

Az utóbbi évek fejlesztései egyre erősebben abba az irányba mutatnak, hogy a mintavétel és a minta-előkészítés ne csak statikus protokoll legyen, hanem intelligens, adatvezérelt folyamat. A raktárakban és silókban alkalmazott hiperspektrális képalkotó rendszerek, NIR-szkennerek és más optikai szenzorok képesek valós időben feltérképezni a gabonafolyam felületét, és gépi tanulási algoritmusok segítségével azonosítani a gombafertőzött vagy potenciálisan mikotoxinterhelt zónákat (DHAKAL ÉS MTSAL, 2023; KIM ÉS MTSAL, 2023a).

Párhuzamosan terjednek az IoT-alapú silómonitoring-rendszerek, amelyek folyamatosan mérik a hőmérsékletet, a relatív páratartalmat, a CO₂-szintet és más, a gombanövekedéssel korreláló paramétereket. Ezekből az adatokból prediktív modellek becsülik a penész- és mikotoxin-kockázat alakulását, és szükség esetén automatikus mintavételi riasztásokat küldenek a laboratóriumok vagy üzemeltetők felé (CHEN ÉS MTSAL, 2024; GBASHI ÉS NJOBEH, 2024).

Mindez illeszkedik az „Élelmiszer-biztonság 4.0” koncepciójába, amelyben a terepi érzékelők, a prediktív algoritmusok és a laboratóriumi analitika egy integrált, adatvezérelt rendszer elemeiként működnek együtt. A jövő mintavételi stratégiái így várhatóan kevésbé lesznek „vakok”: a mintavételi pontok kijelölése és a mintavételi sűrűség dinamikusan alkalmazkodni fog a kockázathoz, amit valós idejű adatok és modellek jeleznek.

4.8. Összefoglalás

A mikotoxin-analitika megbízhatósága nem a kromatográfia során, hanem jóval korábban, a mintavétel első lépéseinél kezdődik. A statisztikaalapú, szabályozásban rögzített mintavételi stratégiák, a megfelelő homogenizálás és szemcseméret, a kontrollált tárolási körülmények, az átgondolt minta-előkészítési lépések és az ezekhez kapcsolódó visszanyerési kísérletek együtt határozzák meg, hogy a később alkalmazott LC-MS/MS-, HRMS-, ELISA- vagy bioszenzoros módszerek mennyire tükrözik a valóságot. A 2020 és 2025 közötti szakirodalom és szabályozási fejlemények egyértelműen azt jelzik, hogy a mintavétel, a minta-előkészítés, az extrakció és tisztítás, valamint a módszervalidálás nem választhatók el egymástól: integrált minőségbiztosítási rendszert alkotnak, amelynek célja, hogy a mikotoxin-eredmények jogérvényesítésre, kockázatértékelésre és prediktív modellezésre egyaránt alkalmasak legyenek (ABREU ÉS MTSAL., 2023; SORBO ÉS MTSAL., 2022; TITTELMIER ÉS MTSAL., 2025).

5. Kivonási (extrakciós) és tisztítási technikák

5.1. Áttekintés

A mintavételt és a homogenizálást követően jutunk el ahhoz a szakaszhoz, amelyet az analitikai kémikusok klasszikus értelemben „valódi” laboratóriumi munkának tekintenek: a kivonáshoz és a tisztításhoz. A mikotoxinok a mátrixban jellemzően a $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ tól a $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ tartomány vagy az alatti koncentrációban vannak jelen, miközben körülöttük bőséggel találhatók fehérjék, zsírok, szénhidrátok, pigmentek és számos egyéb komponens, amelyek mind befolyásolhatják az LC-MS/MS- vagy HRMS-mérést. A kivonás célja, hogy a céltoxint kimozdítsuk a mátrixból egy mérhető, oldatfázisú formába, a tisztítás pedig arra szolgál, hogy a zavaró mátrixkomponensek mennyiségét a lehető legnagyobb mértékben csökkentsük (ABREU ÉS MTSAL., 2023; AGRIOPOULOU ÉS MTSAL., 2020).

A modern UPLC-rendszerek korában a fizikai tisztítás – a szerves extraktum centrifugálása és finomszűrése – legalább annyira fontos, mint maga a kémiai kivonás. A $0,22\ \mu\text{m}$ pórusméretű PTFE membránszűrők rutinszerű használata nemcsak a részecskeszennyezés miatti nyomásnövekedést és oszlopkárosodást előzi meg, hanem csökkenti a mátrixhatást is, mivel a nagyobb kolloid részecskék és csapadékok nem jutnak el az ionforrásig. Gyakorlatilag minden fejlettebb kivonási protokoll egy centrifugálási-szűrési lépéssel zárul, függetlenül attól, hogy QuEChERS-ről, SPE-ről vagy immunaffinitásos tisztításról van szó (ABREU ÉS MTSAL., 2023; HU ÉS MTSAL., 2024). A következőkben a legfontosabb kivonási-tisztítási stratégiákat tekintjük át, a klasszikus oldószeres módszerektől a miniatürizált, nanoanyag-alapú és automatizált megoldásokig.

5.2. Hagyományos oldószeres kivonás

A klasszikus oldószeres kivonás hosszú ideig a mikotoxin-analitika alapeszköze volt, és ma is sok módszer kiindulópontja. A gyakorlatban ez úgy néz ki, hogy a finomra őrölt mintához acetonitril-víz vagy metanol-víz elegyet adnak, gyakran enyhén megsavanyítva 0,1–1 v/v% hangyasavval vagy ecetsavval. A savas közeg különösen az ochraoxin A, a zearalenon és más savas karakterű toxinok esetén növeli az extrakció hatékonyságát (ABREU ÉS MTSAL., 2023; HU ÉS MTSAL., 2024). A mintát ezután rázógépen, ultrahangfürdőben vagy intenzív kevertetés mellett kezelik, hogy az oldószer minél nagyobb felületen érintkezzen a mátrixszemcsékkel.

A kivonás után következik a centrifugálás és a szűrés, jellemzően $0,22\ \mu\text{m}$ PTFE membránon. Az így kapott, mikotoxinokban dúsított extraktum vagy közvetlenül vagy további tisztítás után kerül az LC-MS/MS-rendszerre. Ennek a megközelítésnek az erőssége az egyszerűség és a

robusztusság: relatíve kevés speciális eszközt igényel, könnyen adaptálható különböző mátrixokra, és jól illeszthető a hivatalos módszerek világához (SADOK ÉS KRZYSZCZAK, 2023). Ugyanakkor nagy oldószer-felhasználással jár, különösen nagy mintaátbocsátású laborokban, és összetett, erősen színezett vagy zsíros mátrixoknál a pusztán oldószeres extrakció ritkán elegendő a mátrixinterferenciák elfogadható mértékű csökkentésére. Ilyenkor gyakori az ionelnyomás vagy – ritkábban – jelerősítés a tömegspektrométerben, ami torzíthatja a kvantifikációt. Emiatt a klaszikus oldószeres extrakció ma inkább referenciapont: számos modern eljárás célja, hogy oldószer- és időtakarékosabb, ugyanakkor hasonló vagy jobb analitikai teljesítményt nyújtson. Természetesen az extraktum hígításával a „dilute-and-shoot” elvén csekély injektálási térfogat mellett a rendkívül érzékeny és alacsony kimutatási határú LC-MS-rendszerekkel kombinálva költséghatékony, gyors és többnyire csekély vagy elhanyagolható mátrixhatást mutató módszertani megközelítéseket is engedélyez.

5.3. QuEChERS – gyors, moduláris multitoxin-megoldások

A QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*) eljárást eredetileg növényvédőszer-maradékok vizsgálatára fejlesztették ki (ANASTASSIADES ÉS MTSAL, 2003). Az elmúlt közel két évtizedben azonban az egyik legfontosabb és legsokoldalúbb mintaelőkészítési platformmá vált, amelyet széles körben alkalmaznak különböző szerves szennyezők, köztük több mikotoxin egyidejű meghatározására is.

Az eljárás alapelve az egyszerű, mégis hatékony folyadék-folyadék extrakción alapul. A mintát – szükség esetén a víztartalom előzetes beállítását követően – acetonitrillel extrahálják, majd kisózási lépéssel (magnézium-szulfát és nátrium-klorid, esetenként puffertelt sókeverék hozzáadásával) biztosítják az organikus és aqueus fázis gyors és éles elválását. A célkomponensek, mint a peszticidek és mikotoxinok, döntően az acetonitriles fázisba kerülnek, míg számos poláris és ionos mátrixkomponens a vizes fázisban marad (ABREU ÉS MTSAL, 2023).

A QuEChERS eljárás jelentős paradigmaváltást hozott a multikomponenses analitikai vizsgálatok területén. Egyszerűsége és robusztussága miatt rövid idő alatt világszerte elterjedt, és mára számos szabványosított változata ismert. A leggyakrabban alkalmazott módszerek közé tartozik az AOAC Official Method 2007.01, amely hangyasavat tartalmazó acetonitriles extrakciót alkalmaz, valamint a citrát-puffertelt European Standard EN 15662. Emellett kidolgozásra kerültek miniaturizált változatok is, elsősorban alacsony zsírtartalmú mintákra optimalizálva (ANASTASSIADES ÉS MTSAL, 2007).

Az extrakciót általában diszperz szilárd fázisú tisztítás (dSPE) követi. Ennek során az organikus extraktumhoz különböző adszorbenseket adagolnak – például primer-szekunder, valamint (PSA), C18-at, porózus grafit-szenet (GCB), Z-Sep-típusú anyagokat, valamint vízmegkötés céljából magnézium-szulfátot –, majd rövid keverés és centrifugálás után a tisztított felülúszót elemzik. A PSA alkalmazása azonban savas karakterű peszticidek, illetve egyes mikotoxinok, például az ochratoxin A és a fumonizinek részleges veszteségéhez vezethet, ezért ezek vizsgálata során alkalmazása megfontolandó vagy kerülendő.

A dSPE alternatívájaként jelent meg a diszperzív méretkizárásos tisztítás (EMR-lipid), amely hatékonyan távolítja el a lipideket, pigmenteket és egyéb mátrixalkotókat anélkül, hogy a PSA-hoz kapcsolódó hátrányokat hordozná. Mikotoxin-analitikai alkalmazását QuEChERS-t követően UHPLC-MS/MS módszerekkel sikeresen demonstrálták (LONG ÉS MTSAL, 2023). Általánosságban elmondható, hogy a tisztítási lépések során a mátrixkomponensek jelentős része megkötődik az adszorbenseken, miközben a célanalitikák az acetonitriles felülúszóban maradnak. A kapott extraktum megfelelő hígítás, belső standard hozzáadása és szűrés után közvetlenül alkalmas LC-MS/MS-analízisre, illetve oldószercserét követően GC-MS-mérésekre is.

A QuEChERS módszer sikerének kulcsa a modularitás és az optimalizált kompromisszum: elfogadható szelektivitást, megfelelő visszanyeréseket és nagy mintaátesztő képességet biztosít, miközben mérsékelt oldószer- és eszközigénnyel jár, valamint összhangban áll a zöldkémia alapelveivel. Bár a szuperkritikus szén-dioxid-alapú extrakció szintén hatékony és környezetbarát alternatívát jelent, gyakorlati alkalmazása kevésbé elterjedt, ezért jelen fejezetben nem kerül részletes tárgyalásra.

Az utóbbi években megjelent miniaturizált QuEChERS-protokollok tovább csökkentették az oldószer-felhasználást, miközben jellemzően 70–110% közötti visszanyerést és 15% alatti ismételtelhetőséget biztosítanak, amelyeket a jelenlegi validálási irányelvek elfogadhatónak tekintenek (ABREU ÉS MTSAL, 2023; SADOK ÉS KRZYSZCZAK, 2023). Ennek eredményeként a QuEChERS napjainkban az egyik legszélesebb körben alkalmazott általános minta-előkészítési módszernek tekinthető komplex mátrixok és multikomponenses analitikai feladatok esetén, különösen a mikotoxin-analízis területén.

5.4. Szilárd fázisú extrakció és immunaffinitás-tisztítás

A szilárd fázisú extrakció (SPE) akkor kerül előtérbe, amikor az elválasztás és detektálás különösen érzékeny a mátrixinterferenciákra, vagy a készülék érzékenysége nem teszi lehetővé a mintakoncentráció elkerülését. A hagyományos C18, polimer vagy kevert töltetet tartalmazó adszorbensek alkalmasak a hidrofil komponensek, pigmentek és makromolekulák jelentős részének eltávolítására, így a tisztított eluátum oldószercserét követően már közvetlenül injektálható LC-MS/MS vagy HPLC-FLD-rendszerre (KRSKA ÉS MTSAL, 2006; ABREU ÉS MTSAL, 2023). Az SPE önálló dúsítási lépésként vagy QuEChERS-extraktumok további tisztítására (pl. só eltávolítása és oldószercsere) is használható.

Az immunaffinitás-oszlopok (IAC) ennél is magasabb szelektivitást kínálnak. Ezekben az oszlopokban specifikus ellenanyagokkal bevont hordozó található, amely a célmikotoxinra – például aflatoxinokra, OTA-ra vagy ZEN-re – szelektíven köt. Amikor az extraktum lassan átfolyik az oszlopon, a toxin megkötődik az antitesten, míg a mátrix túlnyomó része átfolyik. Ezután egy mosási lépés, majd metanolos vagy acetonnitriles elúció következik, amellyel a megkötött toxint már a tisztított mátrixban kapjuk vissza. Ezzel a megoldással klasszikus HPLC-FLD-módszerekben $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ alatti LOQ is elérhető, ami magyarázza, hogy az aflatoxin- és OTA-meghatározás történetileg szinte teljes egészében IAC-alapú volt (KRSKA ÉS MTSAL, 2006; AGRIPOULOU ÉS MTSAL, 2020).

Az IAC-k hátránya a magas fajlagos költség, egyszer használatos jelleg és a szűk analitspektrum. Erre válaszul jelentek meg a többanalitos immunaffinitás-oszlopok, amelyek szerkezetileg rokon mikotoxinokat egyidejűleg képesek megkötni, illetve az online SPE-LC-rendszerek, ahol az extrakció és tisztítás a kromatográfiás rendszerbe integrálva zajlik, minimális kézi beavatkozással (TITTELMIER ÉS MTSAL, 2025).

5.5. Molekulárisan lenyomatozott polimerek és új adszorbensek

A molekuláris lenyomatú polimerek (MIP-ek) a biológiai antitestalapú tisztítás szintetikus megfelelői. Előállításuk során a polimerizációs elegyhez sablonmolekulát – például zearalenont vagy ochratoxin A-t – adnak, amely köré a monomerek és keresztkötő anyagok polimerhálót építenek. A sablon eltávolítása után olyan kötőüregek maradnak vissza, amelyek térbeli és kémiai értelemben komplementerek a céltoxinhoz. Az így kapott polimerek kémiai és hőmérséklet szempontjából is jóval stabilabbak, mint az ellenanyagok, és sokszor többször újrahasználhatók (NAZIM ÉS MTSAL, 2023; THATI ÉS MTSAL, 2024).

SPE-formátumba csomagolva a MIP-ek szelektíven megkötik a céltoxint a komplex extraktumból, majd elúció után jó visszanyerést és tiszta eluátumot biztosítanak. Több tanulmány szerint a ZEN-re vagy OTA-ra fejlesztett MIP-oszlopok visszanyerésben és szelektivitásban megközelítik az immunaflinitásos oszlopokat, miközben sokkal robusztusabb és hosszabb távon olcsóbb megoldást jelentenek (WANG ÉS MTSAL, 2022; THATI ÉS MTSAL, 2024; LIU ÉS MTSAL, 2024).

Az utóbbi évek fejlesztései a MIP-eket nanoanyagokkal kombinálják. A kvantumpont–MIP kompozitok például úgy működnek, hogy a toxin kötődése megváltoztatja a fluoreszcens intenzitást; más rendszerek vezető polimerekkel vagy szénelapú nanostruktúrákkal társítják a MIP-et, és a kötődési folyamatot elektrokémiai jelváltozásként detektálják (HUA ÉS MTSAL, 2024; MOGHADAM ÉS MTSAL, 2024). Ezzel a klasszikus SPE-tisztítás és a bioszenzoros mérés egyesülhet egy platformban, ami terepi vagy félterepi alkalmazások felé nyit utat.

A MIP-ekkel párhuzamosan látványosan fejlődnek a fém-organikus vázak (MOF-ek), a kovalens organikus vázak (COF-ek) és különféle mágneses nanokompozitok is. Ezek az anyagok hatalmas fajlagos felületükkel, hangolható pórusszerkezetükkel és gazdag felületi kémiájukkal nagyon kis oldószermennyiségben is hatékony dúsítást tesznek lehetővé, miközben egyszerű mágneses elválasztással vagy centrifugálással könnyen visszanyerhetők. Mágneses szénnanorészecskékkal például gyors és szelektív aflatoxindúsítást értek el tejmintákból (KHALILIPOUR ÉS MTSAL, 2024), míg mágneses COF-kompozitokkal ochraoxin A-t távolítottak el hatékonyan gabonákból (YANG ÉS MTSAL, 2023).

5.6. Miniatürizált és automatizált megoldások

A „zöld analitikai kémia” elvei, az oldószercsökkenés, illetve a szervesről vizesre történő oldószer alkalmazása és a nagy áteresztőképesség iránti igény együttesen a miniatürizálás irányába tolják a mikotoxin-kivonást is. A diszperz folyadék–folyadék mikroextrakció (DLLME), a szilárd fázisú mikroextrakció (SPME), a szövetfázisú adszorpciós extrakció (FPSE) és a mágneses diszperz extrakció mind arra épít, hogy a mikotoxinokat nagyon kis térfogatú oldószerben, nagy felületű adszorbensek segítségével dúsítsák (HU ÉS MTSAL, 2024; KHALILIPOUR ÉS MTSAL, 2024).

HU ÉS MTSAL. (2024) például centrifugális, hidegindukált fázisszétválasztást alkalmaztak fumonizinek és ochraoxinok egyidejű kivonására, kevesebb mint 1 mL szerves oldószer felhasználásával. A kialakuló mikrocseppekben a célanalitok gyorsan átdúsulnak, majd a centrifugálás után a szerves fázis könnyen elválasztható. Más rendszerek MOF- vagy COF-alapú mágneses adszorbeneket alkalmaznak, amelyeket elegendő a minta szuszpenziójához adni; rövid keverés után az analitok megkötődnek, majd egy mágnes segítségével pillanatok alatt visszanyerhetők (YANG ÉS MTSAL, 2023).

Ezekhez szorosan kapcsolódnak az automatizált és integrált minta-előkészítő rendszerek. Az online SPE–LC–MS/MS-megoldásokban a minta betöltése után a dúsítástól az elúcióig és az elválasztásig minden lépést a műszer vezérel, minimális operátori beavatkozással. Más fejlesztések 3D-nyomtatott moduláris kazettákban valósítják meg a szűrés–adszorpció–elúció szekvenciáját, amelyeket akár terepi vizsgálatokhoz is magunkkal vihetünk (BOSMAN ÉS MTSAL, 2024). A *lab-on-a-chip* platformok ennél is tovább mennek: mikrocatornáknak, mikroreaktorokban integrálják az extrakciót, tisztítást, esetleges kémiai derivatizálást és detektálást. Bár ezek ma még főként kutatási eszközök, már most látszik, hogy kulcsszereplői lehetnek a jövő decentralizált, hálózatba kapcsolt mikotoxin-monitoring rendszereinek (CHEN ÉS MTSAL, 2024; TITTELMIER ÉS MTSAL, 2025).

5.7. A kivonás és tisztítás kapcsolata a módszer teljesítményével

Bármennyire változatosak a kivonási és tisztítási technikák, végső értéküket az dönti el, hogy milyen módszerteljesítményt tesznek lehetővé. A visszanyerés, az ismételhetség, a

reprodukálhatóság, a kimutatási és meghatározási határok, valamint a mérési bizonytalanság mind olyan paraméterek, amelyek a minta-előkészítési lépések minőségét tükrözik. A gyakorlatban az analitikai módszerek validálása során nemcsak a kromatográfiás és detektálási paramétereket optimalizálják, hanem a teljes kivonási-tisztítási protokollt is, beleértve az alkalmazott oldószer-összetételt, adszorbenseket, sókeverékeket és szűrési lépéseket (ABREU ÉS MTSAL., 2023; JEDZINIAK ÉS MTSAL., 2023).

A jó gyakorlat szerint az analitikai visszanyerésnek tipikusan 70–120% közötti tartományban kell maradnia, a relatív szórásnak pedig koncentrációtól és mátrixtól függően 15–20% alatt. ABREU ÉS MTSAL. (2023) például olyan multitoxin LC–MS/MS-módszert írtak le kakaóbabra, amely QuEChERS-alapú kivonásra épült, 34 mikotoxin egyidejű meghatározására volt alkalmas, és 70–110% közötti visszanyerést, 15% alatti RSDr-t és 20% körüli kiterjesztett bizonytalanságot ért el. Az ilyen példák jól mutatják, hogy a modern, „zöldebb” és miniaturizált minta-előkészítési megoldások teljes mértékben illeszthetők a szigorú validálási és szabályozási elvárásokhoz. A módszervalidálás részletes követelményeit és a teljesítménymutatók értelmezését a következő, LC–MS/MS-re fókuszáló alfejezet tárgyalja részletesebben.

5.8. Összefoglalás

A mikotoxinok kivonása és tisztítása ma már messze túlmutat azon az egyszerű képen, hogy „oldjunk fel mindent sok acetonitrilben, majd szűrjük le”. A klasszikus oldószeres extrakciók, a QuEChERS-, az SPE- és az immunaflatinitásos oszlopok továbbra is a mindennapi gyakorlat gerincét adják, de egyre inkább kiegészülnek molekulárisan lenyomatozott polimerekkel, nanoanyagokkal, miniaturizált mikroextrakciós technikákkal és integrált, automatizált minta-előkészítő rendszerekkel. Közös céljuk, hogy a mintavétellel és homogenizálással megalapozott, reprezentatív mintából olyan extraktum készüljön, amelyben a mikotoxinok megbízhatóan, kellő érzékenységgel és pontossággal mérhetők.

A következő fejezetekben bemutatott LC–MS/MS-, LC–HRMS-, spektroszkópiai és bioszenzoros módszerek tulajdonképpen ennek a hosszú előkészítési láncnak az utolsó, látványos láncszemei. A teljes rendszer sikerét azonban az dönti el, mennyire harmonikusan illeszkedik egymáshoz a mintavétel, a minta-előkészítés, a kivonás, a tisztítás és a műszeres detektálás; csak ezek együtt képesek biztosítani, hogy a mikotoxin-eredmények valóban alkalmasak legyenek jogérvényesítésre, kockázatkezelésre és prediktív modellezésre.

6. Kromatográfiás és tömegspektrometriai módszerek

6.1. Áttekintés

A mikotoxin-analitika mai gyakorlata gyakorlatilag elképzelhetetlen kromatográfia és tömegspektrometria nélkül. Az 1990-es évektől kezdve a klasszikus, egykomponensű HPLC-módszerek fokozatosan átalakultak nagy áteresztőképességű, több mikotoxint egyidejűleg mérő eljárásokká, amelyek egyetlen futtatással vegyületek tucatjait képesek kvantifikálni $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ vagy az alatti koncentrációtartományban (KRSKA ÉS MTSAL., 2006; ABREU ÉS MTSAL., 2023; TITTELMIER ÉS MTSAL., 2025). A mindennapi gyakorlatban az LC–MS/MS (leginkább jellemzően a hármass kvadrupól tömegspektrométer) számít robusztus műszernek (igásló – „workhorse”): ezt fogadják el referencia-technikaként a hatósági ellenőrzésben, az akkreditált rutinlaboratóriumokban és a kutatási alkalmazások döntő részében (ABREU ÉS MTSAL., 2023; JEDZINIAK ÉS MTSAL., 2023) azonban még az IAC–HPLC–UV/PDA/FLD is elfogadott, sőt sok laboratóriumban csak ez elérhető. Ezt egészítik ki a nagyfelbontású LC–HRMS-rendszerek, amelyek a klasszikus toxinokon túl módosított és „újonnan megjelenő” mikotoxinok felderítésére is alkalmasak (ZHANG ÉS MTSAL., 2023b; VERRI

HERNANDES ÉS WARTH, 2024). A gázkromatográfiás eljárások ma már inkább speciális, jól körülhatárolt feladatokra szorítkoznak, de fontos szerepük maradt bizonyos trichotecének, patulin és más hőstabil vagy illékonyabb komponensek vizsgálatában.

6.2. GC-MS megközelítések

A gázkromatográfiás tömegspektrometria (GC-MS) történetileg kulcsszerepet játszott több mikotoxin, különösen az A- és B-típusú trichotecének, a zearalenon és a patulin analízisében. A legtöbb mikotoxin azonban poláris, és egyesek lehetnek hőérzékenyek, ezért a GC-s méréshez derivatizálni kell: trimetilszililezéssel (pl. MSTFA – N-Metil-N-(trimetil-szilil)-trifluor-acetamid), acilezéssel vagy más származékképző reakcióval teszik őket illékonyabbá és hőstabilabbá (TURNER ÉS MTSAL, 2009; NOTARDONATO ÉS MTSAL, 2021). Ez a lépés idő- és munkaigényes, ráadásul a reakciók gyakran nem mennek végbe teljesen, ami korlátozza a kvantitatív pontosságot.

A modern GC-MS- és GC-MS/MS-módszerek ennek ellenére továbbra is jól használhatók, különösen olyan esetekben, amikor hosszú távú adatfolytonosságra, retrospektív összehasonlításokra vagy specifikus bomlástermékek vizsgálatára van szükség. Az elektronütköztetési (EI) ionizációra épülő GC-MS/MS-módszerek kiváló, reprodukálható fragmentációs mintázatot adnak, és több vizsgálat igazolta, hogy az A- és B-típusú trichotecének esetében a kimutatási határok eléri az LC-MS/MS-módszerek szintjét, különösen derivatizált formában (TOMAS ÉS MTSAL, 2023; RAKK ÉS MTSAL, 2023).

A legtöbb rutinlabor azonban a több mikotoxint érintő méréseket ma már LC-MS/MS- vagy LC-HRMS-rendszeren végzi, a GC-MS inkább speciális kutatási kérdésekre, történeti adatsorok fenntartására szolgál napjainkban. (Megjegyzés: Az „elektronikus orr” technológia illékony szerves vegyületek (VOC) profiljaikkal való összekapcsolása a 7. fejezet bioszenzoros/spektroszkópiai technikák részébe kerül áthelyezésre, mivel az nem GC-MS-technika, ugyanakkor megjegyzendő, hogy keresztvalidálásukban a GC-MS fontos szerepet tölthet be.)

6.3. LC-MS/MS alkalmazása a mikotoxin-analitikában: működési elvek, teljesítmény és gyakorlati szempontok

A folyadékkromatográfiával kapcsolt tandem tömegspektrometria (LC-MS/MS) napjaink egyik legfontosabb és legszélesebb körben alkalmazott analitikai technikája az élelmiszer- és takarmánybiztonsági vizsgálatokban. A mikotoxin-analitika területén különösen a hármas kvadrupol (triple quadrupole, QqQ) típusú rendszerek terjedtek el, amelyek nagy szelektivitásuk, érzékenyséjük és kiváló reprodukálhatóságuk miatt az elemzési gyakorlat „gold standardjának” tekinthetők (ABREU ÉS MTSAL, 2023; TITTELMIER ÉS MTSAL, 2025).

A QqQ LC-MS/MS-rendszerek működési elve a többszörös tömegszűrésen alapul. Az első kvadrupol (Q1) tömegszűrőként működik, és kiválasztja az adott analitra – jelen esetben mikotoxinra – jellemző anyaiont. A kiválasztott ion ezt követően a második kvadrupolba (Q2) jut, amely ütközési cellaként funkcionál. Itt ütközésindukált fragmentáció (collision-induced dissociation, CID) zajlik, amely során az anyai ion jellegzetes fragmentumokra bomlik. A harmadik kvadrupol (Q3) ismét tömegszűrőként működik, és a keletkező termékionok közül az előre kiválasztott ionokat detektálja. Ez az elrendezés lehetővé teszi az analit nagyfokú szelektív azonosítását még komplex, interferenciákkal terhelt mátrixokban is (TITTELMIER ÉS MTSAL, 2025).

A mikotoxinok meghatározására leggyakrabban a multiple reaction monitoring (MRM) üzemmódot alkalmazzák. Ebben az üzemmódban a műszer előre definiált anyai-ion-termékion (m/z) átmeneteket monitoroz, amelyek az adott vegyületre jellemzőek. Egy analit esetében rendszerint egy kvantifikáló és egy vagy több megerősítő átmenetet állítanak be. A kvantitatív átmenet biztosítja a mennyiségi meghatározás pontosságát, míg a megerősítő átmenetek az analit azonosítását

szolgálják. A kvantitatív és megerősítő átmenetek csatornáin mért csúcsterületek arányát ionaránynak nevezzük, amely az LC-MS/MS-alapú azonosítás egyik legfontosabb minőségi kritériuma (ABREU ÉS MTSAL, 2023).

Az ionarány elfogadható eltérésének mértékét nemzetközi iránymutatások és jogszabályok rögzítik. A SANTE-dokumentumok, valamint a 2021/808/EK rendelet egyértelműen meghatározzák az ionarány maximálisan megengedett százalékos eltérését, amely a mérendő koncentráció tartományától függ. E követelmények célja az álpozitív vagy téves azonosítás kizárása, különösen hatósági ellenőrzések és megfeleléségi vizsgálatok során (ABREU ÉS MTSAL, 2023; JEDZINIAK ÉS MTSAL, 2023).

Az ionizációs mód megválasztása alapvetően befolyásolja az LC-MS/MS-mérések érzékenységet és szelektivitását. A pozitív ionizációs mód mellett a negatív ionizáció alkalmazása is kiemelt jelentőségű, különösen a modern, gyors polaritásváltásra képes tömegspektrométerek esetében. Számos mikotoxin negatív ionizációban kedvezőbb szelektivitást vagy eltérő lineáris dinamikus tartományt mutat, mint pozitív módban. Jó példa erre a dezoxinivalenol (DON), amely pozitív és negatív ionizációban egyaránt mérhető, míg más toxinok esetében csak az egyik polaritás alkalmazása bizonyul hatékonynak (TITTELMIER ÉS MTSAL, 2025).

Pozitív ionizáció során az analitok jellemzően protonált vagy addukt formában jelennek meg, például $[M + H]^+$, $[M + NH_4]^+$, $[M + Na]^+$, $[M + K]^+$, illetve vízvesztést követően $[M - H_2O + H]^+$ ionként. Negatív ionizáció esetén leggyakrabban a deprotonált $[M - H]^-$ ion, valamint formiát- vagy acetátadduktok ($[M + HCOO]^-$, $[M + CH_3COO]^-$) figyelhetők meg. Az ionforma megválasztása jelentős hatással van a fragmentációs mintázatra és ezáltal az MRM-átmenetek optimalizálására (ABREU ÉS MTSAL, 2023).

A korszerű multimikotoxin-analitikai módszerek egyre gyakrabban alkalmaznak időzített MRM-et (scheduled MRM). Ebben az üzemmódban az egyes ionátmenetek csak a kromatogram azon szakaszában aktívak, ahol az adott analit retenciós ideje várható. Az időzített MRM jelentősen csökkenti az egyidejűleg monitorozott átmenetek számát, ami rövidebb ciklusidőt, nagyobb csúcspontonkénti adatpontoszámot és kedvezőbb jel/zaj-arányt eredményez. Ennek köszönhetően egy 10-15 perces UPLC-futtatás során akár 30-40 különböző mikotoxin is megbízhatóan meghatározható (TITTELMIER ÉS MTSAL, 2025).

Az LC-MS/MS-alapú mikotoxin-módszerek jellemzően $ng \cdot \mu g \cdot kg^{-1}$ nagyságrendű, vagy annál alacsonyabb mennyiségi meghatározási határokat (LOQ) érnek el. A validált módszerek esetében a visszanyerés általában 70–120% közé esik, míg a relatív szórás (RSD) értéke többnyire 15–20% alatt marad. Ezek a teljesítményparaméterek megfelelnek a hatósági ellenőrzések és a nemzetközi szabályozási környezet által támasztott követelményeknek, és alátámasztják az LC-MS/MS-technika elsődleges szerepét a komplex mátrixú élelmiszerek és takarmányok multimikotoxin-vizsgálatában (ABREU ÉS MTSAL, 2023; TITTELMIER ÉS MTSAL, 2025).

Végezetül fontos megjegyezni, hogy bár az LC-MS/MS-rendszerek a mikotoxin-analitika jelenlegi legfejlettebb és legnagyobb szelektivitást biztosító technikái közé tartoznak, alkalmazásuk eredményessége jelentős mértékben függ a rendszert kezelő és az adatokat értelmező analitikus szakmai felkészültségétől. Körmérések és laboratóriumok közötti összehasonlító vizsgálatok tapasztalatai alapján megállapítható, hogy nem megfelelően képzett személyzet esetén a technika komplexitása téves azonosításhoz, hibás kvantifikációhoz vagy a mérési bizonytalanság alábecsüléséhez vezethet. Ilyen esetekben előfordulhat, hogy egyszerűbb, kevésbé műszerigényes módszerek – például immunanalitikai eljárások – reprodukálhatóbb vagy megbízhatóbb eredményt szolgáltatnak. Ennek megfelelően az LC-MS/MS-alapú mikotoxin-vizsgálatok során kiemelt jelentőségű a vonatkozó ajánlások, teljesítménykritériumok és jogszabályi előírások következetes alkalmazása, a mérőrendszer folyamatos megfelelőségének ellenőrzése, a teljes munkafolyamat

minőségbiztosítása, valamint a személyzet rendszeres és célzott képzése. E tényezők együttesen biztosítják, hogy a technika valódi előnyei a gyakorlatban is érvényesüljenek.

6.4. Kromatográfiás megfontolások: oszlopok, eluensek, gradiens

A mikotoxinokra kidolgozott LC-módszerek túlnyomó többsége fordított fázisú (RP) elválasztást alkalmaz, C18 vagy C18-hoz hasonló stationer fázisokkal. A jellemző oszlopparaméterek 1,7–2,6–3–5 µm részecskeméret, 2,1–3–4,6 mm belső átmérő és 50–250 mm oszlophossz; ez az elrendezés egyszerre biztosít jó csúcscsétválást és 10–20 perc közötti futási időt összetett, többtucat analitot tartalmazó többkomponenses módszerek esetén (ABREU ÉS MTSAL, 2023; LAPRIS ÉS MTSAL, 2024).

A mozgófázis rendszerint enyhén savas vizes és szerves komponensből áll: az A fázis víz, 0,1–1 v/v% hangyasavval és/vagy ecetsavval, és/vagy 5–10 mmol·L⁻¹ ammónium-formiáttal vagy -acetáttal, a B fázis pedig metanol vagy acetonitril hasonló adalékokkal. A savas pH segíti a protonált vagy ammónium-addukt formában történő ionizációt, és megfelelő retenciót biztosít savas jellegű toxinok – például OTA vagy fumonizinek – számára is. Bizonyos nagyon poláris komponensek (pl. egyes trichotecének, fumonizinek) esetén olykor HILIC- vagy speciális RP-fázisokat is alkalmaznak, de a legtöbb multitoxin-módszer kompromisszumos RP-gradienssel dolgozik.

A gradiens általában úgy van felépítve, hogy a futás elején eluálódjanak a polárisabb toxinok (NIV, DON, DON-3G, 3- és 15-acetil-DON, Fusarenon-X), középen a fumonizinek és aflatoxinok a közepes polaritású komponensek, a futás végén pedig a lipofilebb zearalenon és származékai, OTA, enniatinok és beauvericin. Ez a „szegmenses” elrendezés nemcsak a csúcsok közötti felbontást javítja, hanem a mátrixkomponensek eloszlását is segíti: a legszenyvezettebb szakaszok a kromatogram kevésbé kritikus részeire tolhatók, vagy váltószeleppel akár el is vezethetők a tömegspektrométer elől.

6.5. Mátrixhatások, kalibráció és izotóphígítás

A mikotoxinok LC-MS/MS- és HRMS-alapú kvantifikálásának egyik legnagyobb kihívása a mátrixhatás, elsősorban az ionelnyomás/ionerősítés jelensége. A mintaextraktummal az ionforrásba kerülő háttér-mátrixalkotók (pl.: foszfolipidek, zsírok, pigmentek, szénhidrátok, szerves savak és más komponensek) befolyásolják az elektropray cseppek képződését és a töltésvételt, ami az analitok ionizációs hatékonyságát csökkenti vagy ritkábban növeli (ionerősítés). Ennek következtében ugyanakkora mikotoxin-koncentráció más jelintenzitást adhat tiszta oldatban és mátrixban (ABREU ÉS MTSAL, 2023; LAPRIS ÉS MTSAL, 2024).

A mátrixhatás mennyiségileg az *ionizációs hatékonyság arányával* (M%) jellemezhető egy adott koncentráción:

$$M\% = \frac{(A_{\text{mátrixban}} - A_{\text{oldatban}})}{A_{\text{oldatban}}} \times 100$$

ahol „A” a csúcsterületet jelenti mátrixban, illetve tiszta oldatban mért jel alapján.

A gyakorlatban azonban „A”-t gyakran a kalibráció meredekségével helyettesítik. Ugyan konkrét kritérium nincs meghatározva, azonban általában ±20% eltérés elfogadhatónak tekinthető, míg ±50% felett már jelentős ionelnyomásról vagy -erősítésről beszélünk. A jelenség mértéke analit-, mátrix- és forrásfüggő, jellemzően 20–60% közé esik, de a 90% vagy azt meghaladó mátrixhatás is lehetséges egyes komponens- és mátrixkombinációkra.

A mátrixhatások csökkentésére több egymást kiegészítő stratégiát alkalmaznak. Az egyik legelterjedtebb a mátrixillesztett kalibráció, amikor a kalibrációs görbéket nem oldószerben, hanem

toxinmentes („blank”) mátrixextraktumban készítik el, ismert koncentrációk hozzáadásával. Így a kalibráció során ugyanazok a mátrixkomponensek vannak jelen, mint a vizsgált mintákban, a háttér kompenzációjával, így a relatív hiba jelentősen csökkenthető.

Még robusztusabb megoldás az izotópos hígítós tömegspektrometria (IDMS), ahol stabil izotóppal jelzett analógokat – például ^{13}C -DON-t, ^{13}C -ZEN-t vagy D_3 -T-2 toxint – adnak a mintához, akár az extrakciót megelőzően, de az izotópok költségvonzata miatt ez inkább jellemző a végső lépéseknél, mielőtt a minta injektálható. A jelzett és natív formák azonos extrakciós és ionizációs folyamaton mennek keresztül, hatékonyan jellemezhetővé téve az esetleges extrakciós veszteségeket és a mátrixhatásokat, ezáltal kiváló pontosságot és reprodukálhatóságot biztosítva (RAKK ÉS MTSAL, 2023).

Ha a módszerben alkalmazott műszer érzékenysége engedi, egyszerűbb, de hatékony alternatíva lehet a „*dilute-and-shoot*” stratégia, amely a minta jelentős hígításával csökkenti a mátrixkomponensek koncentrációját, ezáltal az ionelnyomást is. Azonban fontos az izotópok használata, amennyire lehetséges, valamint a CRM-alapú QC-tevékenységek is, ahogy a natív tanúsított anyagminták hozzáadásával végzett visszanyerés-vizsgálatok végzése, különösen, ha nem mátrixillesztett kalibrációval dolgozunk. A forrástechnológia megválasztása szintén kulcsfontosságú: több vizsgálat szerint az APCI vagy az *UniSpray*TM forrás gyakran kisebb ionelnyomást mutat, mint a hagyományos ESI, különösen zsíros, olajos, pigment dús vagy magas fehérjetartalmú mátrixokban (TITTELMIER ÉS MTSAL, 2025; BESE ÉS HAMOW, 2024).

A megfelelő kalibrációs stratégia, az izotópos belső standardizálás, a mátrixillesztett görbék, valamint az ionizációs paraméterek optimalizálása együttesen teszi lehetővé, hogy a kvantifikáció reprodukálható, pontos és laborok között összehasonlítható legyen még komplex élelmiszer- és takarmánymátrixok esetében is.

A modern HRMS-platformok – mint a Q-TOF és Orbitrap – már támogatják az automatikus spektrumdekonvolúciót, csúcsezonosítást, jelhangolást és kemometriai kiértékelést olyan szoftverekben, mint a *Compound Discoverer*, *Skyline* vagy *MS-DIAL*. Az újabb rendszerek gépi tanulási algoritmusokat is alkalmaznak a csúcsefelismerés, zajscsökkentés és izomer/izobár diszkrimináció területén, ami előkészíti az utat az AI-alapú mikotoxin-profilozás és automatizált minőségbiztosítás felé (TITTELMIER ÉS MTSAL, 2025).

6.6. Multimátrixos, multimikotoxinos módszerek és hazai LC-MS/MS szakirodalom

A mindennapi laboratóriumi gyakorlatban ritka, hogy minden egyes mátrixra külön mikotoxin-módszert tartsanak fenn. Sokkal gyakoribb a moduláris megközelítés: általános multitoxin LC-MS/MS-panelek működnek gabonákra, takarmányokra, diófélékre, kakaóra és fűszerekre, amelyeket szükség esetén célzottabb eljárások egészítenek ki, például fumonizinek vagy T-2/HT-2-specifikus módszerek formájában. Nemzetközi példák jól mutatják, hogy QuEChERS-alapú extrakcióval kombinált LC-MS/MS-módszerekkel 70–110% közötti visszanyerés, 15–20% alatti relatív szórás és alacsony $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ tartományú LOQ érhető el úgy, hogy a módszer teljesíti az EU-s validálási követelményeket (ABREU ÉS MTSAL, 2023; JEDZINIAK ÉS MTSAL, 2023).

A hazai LC-MS/MS-gyakorlat mögött jól körvonalazható szakirodalmi háttér áll, amelyet három, egymásra épülő kötet képvisel. A TÖLGYESI ÁDÁM ÉS FEKETE JENŐ által jegyzett 2017-es könyv az első, kifejezetten hármas kvadrupol LC-MS/MS-re fókuszáló magyar nyelvű szakkönyv, amely a működési elvektől a gyakorlati példákig – mikotoxin-alkalmazásokkal együtt – végigvezeti az olvasót az élelmiszer- és bioanalitika alapvető kérdésein. A TÖLGYESI-kötet (2021) ezt bővíti ki újabb alkalmazásokkal, többek között HILIC-MS/MS, komplex mátrixok és textilanalitika példáival, nagy hangsúlyt fektetve az optimalizálásra és a mátrixkomplexitás kezelésére. A legfrissebb, TÖLGYESI ÁDÁM ÉS TÓTH EDGÁR által 2024-ben jelzett munka már kifejezetten a többkomponensű

peszticid- és toxinanalitikára koncentrálni, részletesen tárgyalja az LC-MS/MS-technológia elméletét, a mintavétel-mintaelőkészítés-analízis teljes láncát, a QuEChERS- és QuPPE- (Quick Polar Pesticides) protokollokat, valamint az ISO/IEC 17025:2017 és SANTE-ajánlások gyakorlati alkalmazását.

Ezek az online ingyenesen elérhető kötetek nemcsak módszertani referenciák a hazai élelmiszerlánc- és toxinanalitikában, hanem fontos oktatási anyagok is: BSc/MSc-hallgatók, doktori képzések és akkreditált laboratóriumok belső képzései egyaránt építenek rájuk. A magyar gyakorlat egyik jellegzetessége, hogy a peszticid- és mikotoxin-analitika sokszor közös instrumentális platformon fut: azonos UPLC-rendszer, hasonló gradiens, az ionforrás-feltételek finomhangolásával. Ez egyszerűsíti a karbantartást, csökkenti a költségeket, és lehetővé teszi, hogy egyetlen MS-rendszer több különböző multireziduális panelt is kiszolgáljon (TÖLGYESI ÉS FEKETE, 2017; TÖLGYESI, 2021; TÖLGYESI ÉS TÓTH, 2024).

6.7. Hazai alkalmazási példa: multitoxin UPLC-UniSpray-MS/MS módszer

A hazai fejlesztések közül jó példa egy multitoxin UPLC-UniSpray™-MS/MS módszer, amelynek célja gyors, robusztus eljárás kialakítása volt a legfontosabb gabonaeredetű mikotoxinok egyidejű meghatározására. A módszer 20 mikotoxin-komponens mérésére alkalmas, lefedve a fő *Fusarium*-eredetű trichotecéneket (NIV, DON, DON-3G, 3- és 15-acetil-DON, fusarenone-X, T-2 és HT-2 toxinok), ZEA, származékai α - és β -zeralanol, továbbá egyes *Aspergillus*- és *Penicillium*-toxinokat (pl. aflatoxinok B1/B2/G1/G2, OTA), valamint a fumonizineket (B1, B2, B3). A módszert többféle mátrixon – köztük búzaliszten, fejlődő zöld kalászon és kukoricaliszteken alapuló mintákon – validálták, így széles körben alkalmazható agrár- és élelmiszer-analitikai feladatokban. A rendszer Waters Acquity I-class UPLC-kapcsolt Xevo TQ-XS tandem tömegspektrométerből áll, UniSpray™ ionforrással, 50 °C-on Premier MaxPeak BEH C18 1,7 μ m oszloppal, 0,4 mL·min⁻¹ áramlási sebességgel, valamint víz-metanol gradienssel, ammónium-acetát és szerves savak adalékolása mellett. A váltószelep (diverter) alkalmazásával a kromatogram nem hasznos szakaszai a hulladékágra terelhetők, ami jelentősen csökkenti az ionforrás szennyeződését és hozzájárul a hosszabb, stabil üzemidőhöz.

Az UniSpray™ ionforrás működése alapvetően eltér a hagyományos ESI-forrásokétól. A porlasztókapillárisra nem kapcsolnak nagyfeszültséget; ehelyett a kapillárisból kilépő folyadékáramot egy nagyfeszültségű, henger alakú célrúdra ütköztetik. A folyadékáram a célfelület ívét követve eltérül (Coanda-effektus), majd azt elhagyva rendkívül finoman porlasztott aeroszollá alakul a kónusz irányába, magas szárítógázáram és hőmérséklet mellett. Az ionizáció ebben az esetben nem a kapillárisban, hanem a nagyfeszültségű felületen történő töltésátadás révén megy végbe, közel atmoszférikus körülmények között. Ennek a kialakításnak köszönhetően az UniSpray™ forrás több vizsgálat szerint 2-3-szoros jel-zaj arányjavulást, alacsonyabb mátrixhatást – különösen komplex mátrixok esetén – és nagyobb ionforrástűrést biztosít, mivel az ESI-hez képest akár háromszor magasabb függőnygázáram alkalmazható jelvesztés nélkül. A forrás emellett szélesebb polaritás- és vegyületkört képes hatékonyan ionizálni, mint a hagyományos ESI.

A forráskörülményeket és az MRM-átmeneteket sokaságát optimalizálták a maximális érzékenység eléréseért, ennek köszönhetően a mintakezelés az egyszerű „dilute-and-shoot” elvet követheti. A bemérési tömegek széles tartományban (150-300-900-2400-4800 mg) variálhatók (CRM-ekkel igazoltan), az oldószer térfogatának arányos növelésével. Kutatási célú, kisparcellás kísérletek esetén gyakran 5-10 g teljes mintatömegből származó reprezentatív bemérésekre 150-300-900 mg elegendőnek bizonyult, míg nagyobb, akár 1000-2000 g mintatömegek esetén 2,4-4,8 g-os bemérések biztosították a reprezentativitást. A homogenizált mintát ecet- és hangyasavval savanyított acetonitril-víz (80:20, v/v%) eleggyel extrahálják kevertetéssel és nagy teljesítményű vertikális

rázógép segítségével, majd centrifugálás után vízzel hígítják és 0,22 μm pórusméretű hidrofób PTFE-membránon szűrik (30 v/v% savas acetonitriltartalomra, 75 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ mintahányadra), 1,25 μL -t injektálnak analízishez. Az izotópjelzett belső standardeckből kettőt adnak minden mintához – DON a poláris, korai retenciós idejű, valamint T-2 toxin az apolárisabb, későbbi retenciós idejű komponensek jellemzésére. Ha kinyerés előtt adagolják, úgy korrigálják az esetleges extrakciós veszteségeket és mátrixhatásokat. Költség- és időmegtakarítás céljából ezek a hígító vízhez is hozzáadhatóak, ekkor azonban a kinyerési hatékonyságot nem jellemzik. A módszer validálása a SANTE/11312/2021v2026; 2023/10612 SANTE/12089/2016 ajánlások szerint történt, külső oldószeres kalibráció alkalmazásával. A visszanyerések 80–115% közé estek, az ismételtetőség 15% alatt maradt, a reprodukálhatóság minden esetben 20% alatti volt, a linearitás pedig legalább $R^2 > 0,99$ értéket mutatott, 2-3 nagyságrenddel a kimutatási határ felett. A kimutatási határok jellemzően 0,05–5 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, míg a meghatározási határok jellemzően, illetve 0,15–15 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ közé estek, ami megfelel a legtöbb szabályozott mikotoxinra vonatkozó követelménynek, gyakran jóval a maximális határértékek alatt. Kukoricalisztek esetén egyes komponensek – például az aflatoxinok – visszanyerése alacsonyabb volt ($\approx 50\%$), azonban mátrixillesztett kalibráció alkalmazásával az analitikai teljesítmény megfelelő tartományba került. A módszer folyamatos minőségbiztosítást minden mérési szekvenciában CRM-minták párhuzamos analízise biztosította (búza- és kukoricalisztek DON-t, ZEN-t, aflatoxinokat és fumonizineket tartalmazó CRM-ek).

Ez az eljárás jól szemlélteti, hogy a modern ionforrás-technikák, az egyszerű mintakezelési stratégiák és az izotópos korrekció kombinációjával olyan multitoxin-módszerek alakíthatók ki, amelyek egyszerre felelnek meg a szigorú QA/QC-elvárásoknak és a nagy mintaszámú, kutatási jellegű projektek gyakorlati igényeinek (BESE ÉS HAMOW, 2024).

6.8. LC–HRMS: célzott, „suspect” és nem-célzott analitika

Miközben a hármas kvadrupol rendszerek alapvetően célzott kvantitatív mérésekre készültek, a nagyfelbontású tömegspektrometria (*Orbitrap*, *QTOF*) tágabb lehetőségeket nyit. HRMS esetén a ppm (parts per million) a tömegpontosság relatív mértéke, amely a mért m/z érték elméleti, pontos tömegétől való eltérését fejezi ki. A ppm a mért és az elméleti tömeg különbségének az elméleti tömeghez viszonyított aránya, egymillióval szorozva. <5 ppm tömeghiba jó tömegpontosság-nak számít HRMS-ben, és alkalmas az összegképlet megbízható megerősítésére. Mivel a ppm relatív mértékegység, az m/z érték növekedésével azonos ppm mellett egyre nagyobb abszolút tömegeltérés (Da) engedhető meg, ezért a tömegpontosság értékelése mindig ppm-ben történik. FWHM (full width at half maximum – félértékszélesség): a tömegspektrum csúcsának szélessége a maximális intenzitás felénél mérve, amely a tömegfelbontás meghatározására szolgál. A HRMS fő előnye a nagy tömegpontosság (tipikusan <5 ppm) és a nagy tömegspektrális felbontás ($>60\,000$ FWHM), amely lehetővé teszi a teljes pásztázó (*full-scan*) adatgyűjtést. Ez azt jelenti, hogy a detektálható ionok teljes tömegtartománya rögzítésre kerül, így később retrospektív módon újraelemezhető, „adattárházható” (ZHANG ÉS MTSAL, 2023b; VERRI HERNANDES ÉS WARTH, 2024).

A HRMS-t három szinten alkalmazzák. Célzott analízis során a klasszikus mikotoxinokra beállított m/z értékek és fragmentumok mérésére használják, hasonló céllal, mint a QqQ-rendszereket, de nagy felbontással. „Suspect” szűrésnél olyan vegyületeket keresnek, amelyekről ismert a pontos tömeg és esetleg néhány jellemző fragmentum, de nincs hozzájuk feltétlenül hitelesített standard; ez tipikusan módosított vagy újonnan leírt mikotoxinokra, konjugátumokra vonatkozik. Nem célzott analízis (*non-target screening*) esetén előzetes célvegyületlista nélkül vizsgálják a spektrumot, új vagy ismeretlen komponenseket keresve.

ZHANG ÉS MTSAL. (2023b) például UHPLC–HRMS munkafolyamatot alkalmaztak búzaalapú termékek vizsgálatára, és több mint 200 mikotoxinhoz kapcsolódó vegyületet – köztük módosított formákat és társfertőzésből származó gombametabolitokat – azonosítottak, rávilágítva a komplex szennyeződés és a módosított toxinok gyakori együttes előfordulására. A HRMS különösen fontos a maszkolt mikotoxinok, például glükozid- és szulfátkonjugátumok, illetve kovalensen kötött formák felderítésében, mivel teljes spektrumú adataiból később is kiolvashatók új hipotézisek alapján.

Az adatfeldolgozás HRMS esetén jóval komplexebb, mint LC–MS/MS-nél. A csúcsfelismerés, spektrumdekonvolúció, komponensazonosítás és a kemometriai elemzés gyakran dedikált szoftverekre – például *Compound Discoverer*, *Skyline* vagy *MS-DIAL* – támaszkodik. A legújabb megoldások gépi tanulási algoritmusokkal támogatják a zajszűrést, a csúcsdetektálást és a mintázat-alapú azonosítást, előkészítve az utat az AI-alapú mikotoxin-profilozás felé (TITTELMIER ÉS MTSAL., 2025).

6.9. A kromatográfiás módszerek összehasonlító áttekintése

A mikotoxin-analízisben alkalmazott kromatográfiás és tömegspektrometriás módszerek mind előnyökkel és korlátokkal rendelkeznek, és különböző kérdések megválaszolására alkalmasak. A klasszikus HPLC–FLD/UV/PDA-rendszerek robusztusak, viszonylag olcsók és széles körben szabályozói elfogadottságot élveznek aflatoxinok, OTA, ZEN és patulin vizsgálatában, tipikus kimutatási határaik $0,5\text{--}5\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ között mozognak, de szelektivitásuk korlátozott, és általában egy- vagy kevés, pár komponenses megközelítést tesznek lehetővé, mindemellett pedig IAC-t igényelnek a mintaelőkészítés során (SADOK ÉS KRZYSZCZAK, 2023; WANG ÉS MTSAL., KUNG, 2024).

A derivatizálást, azaz származékképzést igénylő GC–MS/MS-eljárások különösen a trichotecének és a zearalenon történeti vizsgálataiban, illetve speciális kutatási kérdésekben hasznosak, $0,1\text{--}5\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ tartományba eső kimutatási határokkal és kiváló kromatográfiás felbontással (TOMAS ÉS MTSAL., 2023; RAKK ÉS MTSAL., 2023). A mai „gold standard” az LC–MS/MS QqQ-technika, amely módszertől függően $1\text{--}50$ mikotoxin egyidejű meghatározására képes, $0,01\text{--}10\text{--}50\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ LOD-értékekkel, nagy szelektivitással és a jogérvényesítéshez szükséges metrológiai nyomon követhetőséggel (ABREU ÉS MTSAL., 2023; JEDZINIAK ÉS MTSAL., 2023). Az UPLC–MS/MS-rendszerek ugyanezt a teljesítményt rövidebb futási idővel és nagyobb áteresztőképességgel nyújtják, igaz, magasabb nyomásigény és költségesebb műszerek árán (TITTELMIER ÉS MTSAL., 2025).

Az LC–HRMS-platformok ma már akár 200 vagy annál több gombaeredetű metabolitot is képesek célzott, „suspect” és nem célzott módon együttesen vizsgálni, általában $0,05\text{--}2\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ közötti kimutatási határokkal. Előnyük a nem célzott képesség és a retrospektív adatelemzés lehetősége, hátrányuk viszont a bonyolult adatfeldolgozás és bizonyos esetekben gyengébb kvantitatív pontosság a QqQ-rendszerekhez képest (ZHANG ÉS MTSAL., 2023b; VERRI HERNANDES ÉS WARTH, 2024).

A 4. táblázat összefoglalja a főbb módszercsoportok jellegzetességeit.

4. táblázat. A mikotoxin-analízisben alkalmazott főbb kromatográfiás módszerek összehasonlítása

Módszer	Tipikus analitok	Kimutatási határ (LOD, $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Előnyök	Korlátok	Jellemző irodalom
HPLC-FLD/UV/PDA	Aflatoxinok, OTA, ZEN, PAT	0,5–5	Robusztus, olcsó, szabályozói elfogadottság	Korlátozott szelektivitás; általában egy-analitos megközelítés	WANG ÉS KUNG (2024); SADOK ÉS KRZYSZCZAK (2023)
GC-MS/MS	Trichotecének, ZEN	0,1–5	Nagy kromatográfiás felbontás; hosszú távú adatfolytonosság	Derivatizálást igényel; kevésbé alkalmas poláros toxinokra	Tomas és mtsai. (2023); Rakk és mtsai. (2023)
LC-MS/MS (QqQ)	1–50 mikotoxin	0,01–10–50	Magas szelektivitás/érzékenység; szabályozói „gold standard”	Mátrixhatások; költséges műszerek	ABREU ÉS MTSAL. (2023); JEDZINIAK ÉS MTSAL. (2023)
UHPLC-MS/MS	40+ mikotoxin	0,01–10–50	Gyors analízis, nagy áteresztőképesség	Ugyanazok a korlátok, mint LC-MS/MS; magas nyomásigény	TITTMER ÉS MTSAL. (2025)
LC-HRMS (Orbitrap/QTOF)	200+ toxin (célzott + ismeretlen)	0,05–2	Nem célzott képesség; retrospektív adatelemzés	Nagy adatkomplexitás; gyengébb kvantitatív pontosság	ZHANG ÉS MTSAL. (2023b); VERRI HERNANDES ÉS WARTH (2024)

(Forrás: ABREU ÉS MTSAL. [2023]; LAPRIS ÉS MTSAL. [2024]; TITTMER ÉS MTSAL. [2025] alapján készült)

6.10. Jövőbeli irányok

Ahogy a kromatográfia egyre szorosabban kapcsolódik az adattudományhoz és az automatizáláshoz, az analitikai laboratóriumok a statikus, célzott monitorozásból a dinamikus, adatgazdag felügyelet felé mozdulnak el. Az ultranagy hatékonyságú folyadékkromatográfia, a nagy felbontású tömegspektrometria és a mesterségesintelligencia-alapú adatfeldolgozás együttes alkalmazása ma már lehetővé teszi több száz gombaeredetű metabolit egyidejű detektálását, új megvilágításba helyezve a komplex szennyeződés, a kumulatív expozíció és az expozomikai összefüggések kérdskörét (VERRI HERNANDES ÉS WARTH, 2024; TITTMER ÉS MTSAL., 2025).

A közeljövőben várhatóan egyre nagyobb szerepet kapnak a „kromatográfia nélküli” direkt tömegspektrometriás módszerek – például a DESI-MS és DART-MS –, amelyek minimális minta-előkészítéssel képesek gyors szűrésre és helyszíni vizsgálatokra. Ezek nem váltják ki a klasszikus LC-MS/MS-alapú munkafolyamatokat, de fontos kiegészítő eszközzé válhatnak a gyors kockázatbecslés és az élelmiszer-vészhelyzeti ellenőrzések során (TITTMER ÉS MTSAL., 2025).

Összességében a mikotoxin-analitika jövője a többszintű integráció felé mutat: a nagyfelbontású kromatográfia biztosítja a pontosságot és a jogérvényesíthető kvantifikálást, a valós idejű érzékelés (elektronikus orr, terepi bioszenzorok, direkt MS) a gyors reagálást, míg a gépi tanulás a komplex adathalmazok prediktív értelmezését. A következő alfejezet azt mutatja be, hogyan

egészítik ki ezeket a nagy érzékenységgű, de laboratóriumközpontú LC-MS-technikákat a gyors, gyakran terepi alkalmazásra szánt nem kromatográfiás és spektroszkópiai módszerek.

7. ELISA és más nem kromatográfiás és spektroszkópiai technikák

7.1. Bevezetés

Az elmúlt évtizedben a mikotoxin-analitika látványosan átalakult: a korábban szinte kizárólag laboratóriumi, extrakcióra és kromatográfiás elválasztásra épülő módszerek mellett megjelent egy gyors, roncsolásmentes, sokszor helyszíni (*on-site*) mérésre alkalmas technikai horizont. Ezek az eljárások nem magukat a toxinmolekulákat próbálják közvetlenül, $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ pontossággal kvantifikálni, hanem a minta optikai vagy spektrális „ujjlenyomatát” mérik: azt, ahogyan a fény különböző hullámhosszai elnyelődnek, szóródnak vagy fluoreszkálnak a minta szerkezeti és kémiai állapotának függvényében. Mivel a gombafertőzés és a toxintermelés a szemek összetételét is megváltoztatja (fehérjék, lipidek, szénhidrátok, másodlagos metabolitok), ezek a spektrális mintázatok gyakran jól korrelálnak a szennyezettség szintjével (KIM ÉS MTSAL, 2023a; DHAKAL ÉS MTSAL, 2023; FOMINA ÉS MTSAL, 2024).

Ide sorolható a Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia ATR-tartozékkal (FTIR-ATR), a közeli infravörös (NIR) spektroszkópia, a Raman- és felszínerősített Raman-spektroszkópia (SERS), valamint a fluoreszcens és hiperspektrális képalkotás (HSI). Közös jellemzőjük, hogy reagensek nélkül, minimális vagy zéró minta-előkészítéssel működnek, a nyers spektrumok vagy hiperspektrális képek értelmezése azonban erősen támaszkodik kemometriára, gépi tanulásra és egyre inkább mélytanulási (DL) modellekre.

Az FTIR-ATR a funkciós csoportok (C = O, O-H, C-H) rezgésalapú ujjlenyomatát adja; a Raman- és SERS-módszerek a molekulakötések inelasztikus szórásán alapulnak, fémnanorészecskéken drasztikusan felerősített jellel; a NIR- és HSI-rendszerek a szórt reflexiót, illetve annak spektrális-térbeli eloszlását vizsgálják; a fluoreszcens technikák pedig a mikotoxinok vagy gombametabolitok emisszióját használják jelként. Ezekre épül rá az „AI-réteg”: PCA, PLS-DA, SVM, CNN és más modellek, amelyek a spektrumokból koncentrációt és fertőzöttségi kategóriát becsülnek (KIM ÉS MTSAL, 2023a; FOMINA ÉS MTSAL, 2024; LOGAN ÉS MTSAL, 2024).

- *FTIR-ATR*: Vibrációs spektroszkópia, amely a mintafelület funkciós csoportjainak (pl. karbonil, hidroxil, alifás CH-k) specifikus abszorpciós sávjai alapján azonosítja a szerkezeti információt.
- *Raman / SERS*: A molekuláris kötésekről származó inelasztikus fényszórás vizsgálata; a SERS (Surface-Enhanced Raman Spectroscopy) fémnanorészecskékkel nagyságrendekkel erősített jelet biztosít, így alkalmas nyomnyi mikotoxinok detektálására.
- *NIR / HSI*: A közeli infravörös spektroszkópia és a hiperspektrális képalkotás a szemcsék felületéről szóródó fényt elemzi, és térbeli-spektrális mintázatokat használ a fertőzöttség és beltartalom előrejelzésére.
- *A fluoreszcenciaalapú (FLD) detektorok*: működési elve azon alapul, hogy egyes vegyületek UV-tartományú gerjesztés hatására gerjesztett állapotba kerülnek, majd hosszabb hullámhosszon, jellemzően a látható (VIS-) tartományban fényt bocsátanak ki. A kibocsátott fluoreszcens sugárzás intenzitása arányos a fluoreszcens molekulák mennyiségével. A detektor a gerjesztési és emissziós hullámhosszokat szelektíven választja ki, ami nagy érzékenységet és szelektivitást biztosít. Az adatok gyakran gerjesztés-emisszió mátrixok (EEM) formájában értékelhetők.

- *AI-réteg*: A spektroszkópiai adatokhoz kapcsolódó elemzőmodul, amely gépi tanulási és mélytanulási modelleket alkalmaz (pl. PCA, PLS-DA, SVM, CNN) a minták osztályozására és kvantitatív becslések készítésére.

7.2. ELISA

Az ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay – immunoaffinitás kromatográfia) az egyik leggyakrabban alkalmazott immunkémiai módszer a mikotoxinok – például aflatoxinok, dezoxinivalenol (DON), zearalenon (ZEA) vagy fumonizinek – gyors, költséghatékony és nagy áteresztőképességű kimutatására élelmiszer- és takarmánymintákból. A módszer alapja az antigén-antitest kötődésen alapuló kompetitív immunanalitikai reakció, amelyben a célmolekula (mikotoxin) verseng egy jelölt analóggal az antitest kötőhelyéért (WANG ÉS MTSAL, 2022). Az analízis tipikus lépései: (1) megfelelő mintavétel és homogenizálás – különösen fontos a mikotoxinok heterogén eloszlása miatt (ZHENG ÉS MTSAL, 2006), (2) oldószeres extrakció, majd (3) a minta hozzáadása az antitesttel bevont mikrotiterlemezhez, ezt pedig (4) szubsztrát hozzáadása követi. Az enzimmel jelölt antigéneken lévő enzim átalakítja a szubsztrátot fényváltozás mellett, és ezt detektáljuk. A kompetitív ELISA esetében minél nagyobb a mintában jelenlévő mikotoxinok mennyisége, annál kevesebb jelölt antigén kötődik, így a végső színintenzitás fordítottan arányos a toxin koncentrációjával (BOSHRA ÉS MTSAL, 2023). Az enzimhez kötött antigén jelzése tetrametilbenzidin (TMB) vagy más kromogén szubsztrát segítségével alakul ki, majd spektrofotometriás leolvasás következik, amelyet kalibrációs görbékkel értékelnek.

Az ELISA előnyei közé tartozik a gyors eredményhez jutás (15–60 perc), lehet költség tekintetében is előnyös, amennyiben a teljes kit feltöltött (40 mintára kb. 250 EUR), valamint az, hogy akár terepi körülmények között is elérhető – kereskedelmi készletekben gyakran egyszer használatos „single-use cartridge” formában (BIO SUPPLY, 2020). Ugyanakkor a módszer korlátai is ismertek: hajlamos lehet a mátrixinterferenciára, a keresztreakciókra, valamint egyes készletek linearitási tartománya korlátozott (WILEY, 2019). Emiatt az ELISA elsősorban előszűrésre, monitoringra és gyors döntéstámogatásra ideális, míg a végleges határérték-ellenőrzéshez validált referencia-technikák, pl. LC-MS/MS alkalmazása kötelező.

7.3. Infravörös spektroszkópia: FTIR-ATR és NIR

Az infravörös spektroszkópia régóta alapvető eszköz az élelmiszerek és takarmányok összetételének vizsgálatában, és az utóbbi években a mikotoxinokkal kapcsolatos kutatásokban is előtérbe került. Az FTIR-ATR különösen praktikus, mert őrölt gabona- vagy lisztminták oldószer nélküli, közvetlen mérését teszi lehetővé: elegendő a mintát az ATR-kristályra helyezni, és néhány másodpercen belül teljes spektrumot kapunk. A spektrum jellegzetes elnyelési sávjai – például az amid I sáv $\sim 1650\text{ cm}^{-1}$ környékén, vagy a szénhidrátokhoz köthető $1000\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ tartomány – érzékenyen reagálnak a gombafertőzés és toxinfelhalmozódás okozta összetétel-változásokra (FOMINA ÉS MTSAL, 2024).

FOMINA ÉS MTSAL. (2024) dezoxinivalenol (DON) -szennyezettséget modelleztek búzában ATR-FTIR-spektrumok és parciális legkisebb négyzetes regresszió (PLSR) kombinációjával. Eredményeik szerint $R^2 = 0,94$ és $\text{RMSECV} < 0,2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ érték érhető el, ami azt jelzi, hogy megfelelő modellépítés mellett az FTIR-alapú becslések kvantitatív pontossága megközelítheti a kromatográfiai referenciaértékét.

A közeli infravörös (NIR) spektroszkópia a C–H, N–H és O–H rezgések felharmonikusait és kombinációs sávjait vizsgálja, és különösen jól alkalmazható teljes szemek gyors, érintésmentes szkennelésére. Ilyenkor a spektrumot nem egy őrölt, homogenizált mintáról, hanem magáról a szemről veszik, gyakran mozgó szalagon, ipari körülmények között. Kemometria modellek – főkomponens-

analízis (PCA), PLS, SVM – a spektrális mintázatokat DON-, ZEN- vagy más mikotoxinszintekkel hozták kapcsolatba, jellemzően 0,5–1 mg·kg⁻¹ körüli kimutatási határral (TEIXIDÓ-ORRIES ÉS MTSAL, 2023). A módszer külön előnye, hogy a „jó” és „rossz” szemek osztályozására kiválóan alkalmas, még ha a pontos koncentráció-bebecslésben el is marad az LC-MS/MS pontosságától.

7.4. Raman- és felszínerősített Raman-spektroszkópia (SERS)

A Raman-spektroszkópia az infravörös eljárásokat kiegészítve az inelasztikus fényszórásra épül: a bejövő fotonok egy része energiát cserél a molekuláris rezgésekkel, így a visszaszórt fény frekvenciája eltolódik. Az így kapott Raman-spektrum a molekuláris kötések rezgésállapotait tükrözi, és érzékenyen jelzi a szerkezeti-kémiai változásokat.

A mikotoxin-kutatás fókuszába az úgynevezett felszínerősített Raman-spektroszkópia (SERS) került, ahol az analitmolekulákat fémnanosztruktúrákra (arany, ezüst, réz) adszorbeálják. A lokalizált felületi plazmonrezonancia következtében a Raman-jel akár 10⁴–10⁶-szoros erősítést is kaphat, így extrém alacsony koncentrációk válhatnak mérhetővé. LOGAN ÉS MTSAL. (2024) modern SERS-szubsztrátokkal 10⁻¹² mol·L⁻¹ tartományig mutattak ki aflatoxinokat, ami jól szemlélteti a technika potenciális érzékenységét.

KIM ÉS MTSAL. (2023b) egy kompakt, automatikus Raman-rendszert fejlesztettek kukoricamin-ták aflatoxinszűrésére, beépített gépi tanulási algoritmusokkal. Modelljeik több mint 98%-os osztályozási pontossággal különítették el a fertőzött és nem fertőzött szemeket, demonstrálva, hogy a SERS-alapú rendszerek nemcsak analitikai laborban, hanem féltérpi környezetben is alkalmazhatók. A miniaturizált, hordozható Raman- és SERS-eszközök ezért ma már fontos szereplői az „Élelmiszer-biztonság 4.0” koncepcióban: gyors, jelölésmentes, helyszíni detektálást tesznek lehetővé, akár gyártósorokra integrált formában (CHEN ÉS MTSAL, 2024).

7.5. Fluoreszcencia-alapú és hiperspektrális képalkotás

A fluoreszcens technikák a mikotoxinok – elsősorban az aflatoxinok – saját fluoreszcenciáját, illetve a gombák által termelt fluoreszcens másodlagos metabolitok emisszióját használják ki. Míg egyszerű esetben egyetlen gerjesztési-emissziós párból is származtatható minőségi információ, a modern megközelítések egyre inkább a fluoreszcens hiperspektrális képalkotás (HSI) irányába mozdulnak el.

A fluoreszcens HSI nemcsak spektrális, hanem térbeli információt is gyűjt: minden pixelhez teljes emissziós spektrum tartozik, így a gabonaszemek felületének kémiai és morfológiai térképe egyszerre készül el. DHAKAL ÉS MTSAL. (2023) 400–1000 nm tartományban alkalmaztak hiperspektrális képalkotást búzaszemekre, majd az adatokat támogatott vektorgép (SVM-) és konvolúciós neurális háló (CNN-) modellekkel elemezték. A fertőzött és egészséges szemek elkülönítése így több mint 95%-os pontossággal valósult meg.

ZHU ÉS KOLLÉGÁI (2023) ResNet-alapú mélyhálót fejlesztettek, amelyben az aflatoxin B₁ koncentrációja R² > 0,9 korrelációt mutatott az LC-MS/MS-referenciaértékekkel. Eredményeik azt jelzik, hogy a fluoreszcens HSI megfelelő modellen keresztül nemcsak osztályozásra (jó/rossz), hanem kvázi kvantitatív becslésre is használható. Az ilyen rendszerek integrálhatók ipari gabonaszortírozó vonalakba, így valós időben segíthetik a fertőzött szemek kiszűrését a tömegtételekből.

7.6. Adatfeldolgozás és kemometria

A spektroszkópai és hiperspektrális technikák óriási mennyiségű, nagy dimenziószámú adatot generálnak: minden spektrum több száz-ezer hullámhosszértéket tartalmaz, a hiperspektrális

képek pedig ennek többszörösét. E nyers adatok feldolgozása nem képzelhető el kemometria és mesterséges intelligencia nélkül.

A tipikus munkafolyamat először előfeldolgozásból áll: baseline-korrekció, szórásnormalizálás (SNV), esetenként Savitzky–Golay deriváltak alkalmazása szükséges a háttérjel és a zaj csökkentésére. Ezt általában feltárási analízis követi, például főkomponens-analízis (PCA), amely a dimenziószám csökkentésével segít a minta-csoportok elkülönítésében és a kiugró adatok azonosításában.

A kvantitatív modellezés során parciális legkisebb négyzetes regressziót (PLSR), támogatott vektorgépet (SVM) vagy más regressziós algoritmusokat alkalmaznak a mikotoxin-koncentráció becslésére. Osztályozási feladatokra – például fertőzött vs. nem fertőzött szemek – egyre gyakrabban használnak mélytanulási megoldásokat, elsősorban CNN-architektúrákat. FOMINA ÉS MTSAL. (2024) ÉS DHAKAL ÉS MTSAL. (2023) is rámutattak, hogy megfelelő előfeldolgozás és nem lineáris ML-modellek kombinációjával 10–15%-kal javítható a predikciós pontosság a klasszikus PLSR-hez képest.

Különösen ígéretes irány a spektroszkópiai adatok és az LC-MS/MS-referenciaértékek integrálása. Ha a spektrális modelleket olyan mintákon tanítják, amelyekre rendelkezésre állnak „gold standard” LC-MS/MS-adatok, a kapott hibrid kalibrációs modellek robusztusabban teljesítenek különböző műszereken és eltérő környezeti feltételek között is. Ez lehetővé teszi, hogy a terepi eszközök által szolgáltatott becslések érdemben összevethetők legyenek a laboratóriumi mérésekkel.

7.7. Előnyök és korlátok

A spektroszkópiai módszerek legnagyobb vonzereje a gyorsaság és a roncsolásmentesség. Egy FTIR-ATR- vagy NIR-mérés jellemzően néhány másodperctől legfeljebb pár percig tart, reagensek nélkül, és a minta a vizsgálat után változatlan formában rendelkezésre áll megerősítő LC-MS/MS-analízishez. Nagy mintaszám esetén a fajlagos költség rendkívül alacsony, különösen akkor, ha a spektrométerek folyamatos üzemmódban, gyártósorokra integrálva működnek. A hordozható, kézi vagy drónra szerelhető NIR-, Raman- és HSI-eszközök további előnye, hogy közvetlenül a terepen vagy a tárolókban gyűjthetnek adatokat.

Ugyanakkor ezek a technikák döntően közvetett, kalibrációfüggő információt nyújtanak. A spektrális jelek nem egyetlen komponenshez, hanem a minta összetett kémiai-fizikai állapotához kapcsolódnak, így a koncentrációbecslés megbízhatósága erősen függ a referenciaadatoktól, a kalibrációs készlet sokféleségétől és a modell karbantartásától. Spektrális átfedések, környezeti változások (hőmérséklet, nedvesség), műszerdrift és mátrixkülönbségek mind csökkenthetik a pontosságot. Emiatt a spektroszkópia jelenleg elsősorban szűrő- és korai riasztási eszközként értelmezhető, amelyet megerősítő, jogérvényesítésre alkalmas LC-MS/MS-méréseknek kell követniük (TITTMER ÉS MTSAL., 2025).

7.8. Spektroszkópiai módszerek összehasonlító összefoglalása

Az 5. táblázat a spektroszkópiai és képalkotó módszerek főbb jellemzőit, előnyeit és korlátait foglalja össze a mikotoxin-analitikában.

5. táblázat. Spektroszkópiai és képképző módszerek összehasonlítása mikotoxinok kimutatására

Technika	Fő analit/mátrix fókusz	LOD (mg kg ⁻¹)	Idő/minta	Hordozhatóság	Előnyök
FTIR-ATR	DON, ZEN búzában/lisztben	0,2–0,5	< 2 perc	Asztali / hordozható ATR	Minimális előkészítés; funkció csoport-infó
NIR	Teljes szem szkennelés	0,5–1,0	< 1 perc	Kézi készülékek	Gyors tömegvizsgálat
Raman / SERS	AFB ₁ , ZEN, OTA	10 ⁻⁶ –10 ⁻⁹ mol·L ⁻¹	mp-ek	Hordozható Raman-szondák	Rendkívül érzékeny; jelölésmentes
Fluoreszcens HSI	AFB ₁ , gombakárosodás	0,1–1,0	mp- percek	Labor / ipari rendszerek	Térbeli térképezés; AI-integráció
UV-Vis / PLS	Általános minőségi paraméterek	1–5	< 1 perc	Hordozható UV-Vis	Alacsony költségű szűrés

(Forrás: KIM ÉS MTSAL. [2023a,b]; DHAKAL ÉS MTSAL. [2023]; FOMINA ÉS MTSAL. [2024]; LOGAN ÉS MTSAL. [2024]; TEIXIDÓ-ORRIES ÉS MTSAL. [2023]; ZHU ÉS MTSAL. [2023] alapján készült)

7.9. Kitekintés és jövőbeli trendek

A spektroszkópia ma már az intelligens érzékelés korszakába lépett: az optikai ujjlenyomatok valószínű idejű adatfeldolgozással, hálózati kommunikációval és automatizált döntési logikával társulnak. A hordozható, AI-val támogatott spektrométerek képesek önkalibrálásra, vezeték nélküli adattovábbításra és azonnali riasztásra, így távoli silók, raktárak vagy feldolgozóüzemek állapotát is folyamatosan nyomon lehet követni.

A jövő analitikai stratégiája várhatóan kétlépcsős lesz. Az első szintet a gyors, roncsolásmentes optikai szűrés jelenti spektroszkópiával (FTIR, NIR, Raman, HSI), amely nagy mintaszám mellett képes azonosítani a gyanús tételeket vagy térben lokalizálni a fertőzött zónákat. A második szintet a megerősítő LC–MS/MS- vagy LC–HRMS-alapú kvantifikálás adja, amely biztosítja a jogi megfeleléshez szükséges pontosságot és metrológiai nyomon követhetőséget.

Ehhez kapcsolódik az úgynevezett e-orr és illékony szerves vegyületeken (VOC) alapuló detektálás területe is: az elektronikus orr rendszerek illékony szerves vegyületek mintázatát érzékelik szenzorhálózatokkal, így közvetetten jelzik a toxintermelő gombafajok jelenlétét és aktivitását. HAMOW ÉS MTSAL. (2021) például azt mutatták be, hogy a gabonák légterének VOC-profilja jól használható a gombafertőzés korai felismerésére és kockázati zónák azonosítására. Bár ezek az eszközök magukat a mikotoxinokat nem mérik, a spektroszkópiai és LC–MS-adatokkal együtt integrálhatók olyan komplex, többforrású monitoringrendszerekbe, amelyek új minőséget jelentenek a precíziós élelmiszerlánc-felügyeletben.

A következő fejezetben azokat a bioszenzoros megoldásokat tekintjük át, amelyek a molekuláris felismerést (ellenanyagok, aptamerek, MIP-ek) kombinálják optikai vagy elektrokémiai jelképzéssel, és így hidat képeznek a laboratóriumi LC–MS-alapú analitika és a terepi, valószínű idejű döntéstámogatás között.

8. Bioszenzorok és intelligens detektálási platformok

8.1. Bevezetés

A bioszenzoros mikotoxin-analízis lényege röviden az, hogy a molekuláris felismerést, a jelátalakítást és az adatkiértékelést egyetlen kompakt, sokszor hordozható platformba sűrítjük. Míg az LC-MS/MS vagy a különféle spektroszkópiai módszerek alapvetően laborhoz kötött technikák, a bioszenzorok a „vigyük a labort a mintához” elvét valósítják meg: céljuk, hogy a helyszínen, percek alatt, viszonylag alacsony fajlagos költséggel szolgáltatassanak döntéstámogató információkat élelmiszer- és takarmányminták mikotoxin-szennyezettségéről.

Ezekben a rendszerekben mindig jelen van egy felismerő elem – ellenanyag, aptamer, enzim vagy molekuláris lenyomatú polimer (MIP) – amely specifikusan kötődik a célt toxin(ok)hoz, és ezt a kölcsönhatást valamilyen optikai (színváltozás, fluoreszcencia) vagy elektrokémiai jellel alakítjuk. A nanotechnológia, a mikrofluidika és a mesterséges intelligencia fejlődése ma már lehetővé teszi, hogy több mikotoxin egyidejű kimutatása is megoldható legyen percek alatt, kézi vagy okostelefonnal olvasható eszközökkel (CHEN ÉS MTSAL, 2024; KHAN ÉS MTSAL, 2024).

A bioszenzor-platformok jó példái az „Élelmiszer-biztonság 4.0” paradigmának: a molekuláris specifitás miniaturizálással, automatizálással és digitális konnektivitással párosul. Ebben az alfejezetben először a klasszikus immuneszteket (LFIA) tekintjük át, majd az aptameralapú és nanoanyagokkal erősített érzékelők, a mikrofluidikai *lab-on-a-chip* rendszerek, végül a mesterséges intelligenciával támogatott „okos” bioszenzor-hálózatok kerülnek sorra (CAI ÉS MTSAL, 2023; WU ÉS MTSAL, 2024; YAN ÉS MTSAL, 2024).

8.2. Immunesztek és laterális áramlású eszközök

A laterális áramlású immunesztek (LFIA) ma is a legelterjedtebb gyors tesztek mikotoxinok szűrésére élelmiszer- és takarmánymintákban. Felhasználói szempontból ezek „a csík-tesztek”: néhány csepp extraktumot viszünk fel, várunk 5-15 percet, majd szabad szemmel vagy olvasóval kiértékeljük az eredményt. A háttérben azonban jól felépített immunokémiai reakció zajlik: a mintával együtt áramló mikotoxin kötődik a jelölt ellenanyaghoz, majd a membránon rögzített befogó ellenanyaghoz. A kötődés eredményeként jel – színes csík vagy fluoreszcencia – jelenik meg az adott pozícióban, amely kvalitatív vagy félkvantitatív információt ad a szennyezettségről.

A klasszikus LFIÁ-k jelzőrészecskéi kolloid arany nanorészecskék (AuNP), amelyek jól látható vörös csíkot adnak. Az új generációs tesztek azonban ennél jóval tovább mennek: nanoenzimeket, fluoreszcens nanorészecskéket vagy kvantumpontokat alkalmaznak, ami kifejezetten javítja az érzékenységet és lehetővé teszi több analit egyidejű detektálását is. TANG ÉS MTSAL. (2024) nanoenzimmel erősített LFIÁ-t dolgoztak ki AFB₁, ZEN és OTA egyidejű kimutatására, 0,05–0,2 µg·kg⁻¹ a kimutatási határ, ami nagyjából egy nagyságrenddel érzékenyebb a hagyományos AuNP-alapú tesztekénél. WU ÉS MTSAL. (2024) olyan kettős módú, UiO-L@AIEgens-alapú csíkot mutattak be, amely egyszerre ad kolorimetriás és fluoreszcens választ, és okostelefon-kamerával kvázi-kvantitatív módon kiolvasható.

Az LFIÁ-k legnagyobb erőssége a gyorsaság és az egyszerűség, ugyanakkor pontosságukat erősen befolyásolja az ellenanyagok affinitása és specifitása, a mátrixinterferenciák, valamint a vizuális kiértékelés szubjektivitása. Ez utóbbi problémát ma már hordozható leolvasók és AI-alapú képfeldolgozó alkalmazások enyhítik: a tesztcsíkról készült fotót szoftver elemzi, numerikus intenzitásértékeket rendel a sávokhoz, és félkvantitatív, sőt számos esetben kvantitatív eredményt ad (CHEN ÉS MTSAL, 2024). Így a klasszikus immuneszt fokozatosan bioszenzorplatformmá válik.

Egyre népszerűbb a MycoFossTM (Foss Analytical, Hillerød, Dánia) egy bead alapú, flow citometriás immunoassay technológián alapuló mikotoxin-szűrőrendszer, amelyet kifejezetten

gabonák és takarmányok gyors, kvázi-kvantitatív vizsgálatára fejlesztettek ki. A módszer működési alapelve a kompetitív kötődési mechanizmus: fluoreszcensen jelölt mikotoxin-analógok versengenek a mintában jelen lévő célmolekulákkal a mikrogömbökhöz (beadekhez) kötött antitestek kötőhelyeiért. A kötődési arány változását többcsatornás lézeres detektálás méri, amely lehetővé teszi a több analit egyidejű (multiplex) meghatározását, például DON, ZEA, fumonizinek, ochratoxin A, aflatoxinok és T-2/HT-2 esetében. A MycoFoss™ előnye a gyors mérési idő, a minimális mintaelőkészítés és a kezelőbarát, félautomatizált mérési protokoll, ami alkalmassá teszi nagy tételszámú ipari vagy logisztikai ellenőrzési folyamatokba való integrálásra. Ugyanakkor pontossága és reprodukálhatósága elmarad a referenciamódszerektől, például az LC-MS/MS-től, és bár egyes esetekben – például ochratoxin A meghatározásakor – az ELISA és a HPLC-FLD módszerekkel összemérhető eredményeket szolgáltat, a HPLC-FLD érzékenysége nagyságrendekkel jobbnak bizonyult (SZŐKE ÉS MTSAL, 2022). Ennek megfelelően a beadalapú flow citometria elsősorban előszűrésre, kockázatbecslésre és mintatétel-alapú döntéstámogatásra alkalmazható, míg megfelelőségi vizsgálatokhoz validált, referencialaboratóriumi módszerek szükségesek.

8.3. Aptameralapú bioszenzorok

Az aptamerek a bioszenzor-fejlesztés másik kulcsszereplői. Rövid, egyszálú DNS- vagy RNS-szekvenciákról van szó, amelyek meghatározott térszerkezetet vesznek fel, és ennek révén nagy specificitással és affinitással kötődnek egy adott célmolekulához. Az ellenanyagokkal szemben előnyük, hogy teljesen szintetikus úton állíthatók elő, könnyen módosíthatók, jól bírják a hő- és pH-ingadozást, és kifejezetten kompatibilisek különféle nanoanyagokkal. AFB₁-re, OTA-ra, ZEN-re és több más mikotoxinra is fejlesztettek már aptamereket nanomoláris disszociációs állandókkal, ami ideálissá teszi őket bioszenzoros alkalmazásokhoz.

8.3.1. Elektrokémiai aptaszenzorok

Az elektrokémiai aptaszenzorok az aptamer-toxin kölcsönhatást elektromos jel formájában mérik. A szenzor felületén (pl. arany- vagy szénelektródán) rögzített aptamer szerkezete a kötődéskor megváltozhat, ami hatással van a felülettöltésre, az elektronátmenetre vagy az impedanciára. A mért áram-, feszültség- vagy impedanciaváltozást aztán koncentrációvá lehet alakítani.

YAN ÉS MTSAL. (2024) önellátó fotoüzemanyagcella-alapú aptaszenzort terveztek több mikotoxin párhuzamos detektálására. A rendszer előnye, hogy a fényenergia segítségével saját magának állítja elő a jeladáshoz szükséges elektromos energiát, így csökken a külső táplálás igénye. Kimutatási határuk 0,03 ng·mL⁻¹ körül alakult, ami jól mutatja az elektrokémiai aptaszenzorok potenciális érzékenységét.

THATI ÉS MTSAL. (2024) ugyan elsősorban molekulárisan lenyomatozott μ -SPE-HPLC kombinációt ismertettek aflatoxinokra, de eredményeik szépen illusztrálják a MIP-alapú szelektív felismerés és az elektrokémiai vagy kromatográfiai jelgenerálás közötti szinergiát. Az analitikai gondolkodás mindkét esetben azonos: szelektív megkötés, majd pontos, robusztus jelátalakítás.

8.3.2. Optikai aptaszenzorok

Az optikai aptaszenzorok többsége fluoreszcencia-változásra vagy kolorimetriás jelre épít. Gyakori megoldás, hogy az aptamer és egy nanorészecske vagy kvantumpont között energia- vagy elektrontranszfer zajlik, amely a toxin kötődésekor megváltozik, így könnyen mérhető intenzitáskülönbség jön létre.

CAI ÉS MTSAL. (2023) Fe–N–C egyatomos nanoenzim-alapú laterális áramlású tesztet fejlesztettek, ahol az aptameres felismerés több mikotoxin (pl. AFB₁, ZEN, OTA) multiplex detektálását

teszi lehetővé $\text{sub-ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ érzékenységgel. A nanoenzim katalitikus aktivitása drasztikusan felerősíti a jelváltozást, így az érzékelő terepi környezetben is közelíti a laboratóriumi érzékenységet.

LU ÉS MTSAL. (2023) okostelefonnal leolvasható kolorimetriás aptaszenzort dolgoztak ki AFB_1 kimutatására. Az AuNP-k aggregációja színváltozást okoz, amelyet a telefon kamerája rögzít; a kapcsolódó alkalmazás a képből kiszámítja a koncentrációt. A rendszert tíz különböző babfajta terepi analízisében tesztelték, demonstrálva, hogy az aptamer-nanorészecske kémia valós környezetben is működőképes döntéstámogató eszköz lehet.

8.4. Nanoanyagokkal erősített bioszenzorok

A bioszenzorok teljesítményét ma elsősorban a nanoanyagok húzzák fel. A nagy fajlagos felület, a katalitikus aktivitás és a hangolható optikai-elektronikai tulajdonságok mind azt szolgálják, hogy a jel-zaj arány javuljon, a kimutatási határok pedig egyre alacsonyabbak legyenek.

Kiemelkedő példák a fém-organikus vázák (MOF-ok), amelyek pórusstruktúrája és kémiai felülete finoman hangolható. HU ÉS MTSAL. (2024) és YANG ÉS MTSAL. (2023) MOF-kompozitokat alkalmaztak OTA és ZEN szelektív dúsítására, majd fluoreszcens vagy elektrokémiai detektálásra, kiváló visszanyeréssel és alacsony LOD-okkal. A MOF-alapú adszorbensek jól illeszthetők mind extrakciós, mind bioszenzoros platformokba.

HUA ÉS MTSAL. (2024) kvantumpont-MIP (QD-MIP) rendszert fejlesztettek zearalenon kimutatására mikrofluidikai környezetben. A MIP gondoskodik a szelektív kötésről, a kvantumpont pedig intenzív fluoreszcens jelet ad; a módszer $0,002\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ LOD-ot ért el, ami már ultranyomnyi szintek detektálására is alkalmassá teszi.

KHALILIPOUR ÉS MTSAL. (2024) szénnanorészecskéket alkalmaztak aflatoxinok dúsítására és kimutatására, míg CAI ÉS MTSAL. (2023) és ZHU ÉS MTSAL. (2024) bimetallikus nanoenzimeket építettek be LFIA-k jelerősítő moduljaként. Ezek az anyagok lehetővé teszik, hogy az LFIA-szerű platformok érzékenysége közelítsen a laboratóriumi ELISA- vagy LC-MS szintjéhez, miközben megmarad a gyorsaság és az egyszerű használat.

8.5. Mikrofluidika és lab-on-a-chip eszközök

A mikrofluidikai technológiák azt a kérdést próbálják megoldani, hogyan lehet az analitikai folyamatot – mintakezelést, reakciót, elválasztást és detektálást – egyetlen, néhány négyzetcentiméteres *chip*en megvalósítani. Az ilyen „lab-on-a-chip” rendszerekben a folyadékok mikroliteres vagy akár nanoliteres csatornában áramlanak, a folyamatokat pedig szelepstruktúrák, kapilláris erők vagy külső pumpák szabályozzák.

HUA ÉS MTSAL. (2024) kvantumponttal integrált mikrofluidikai eszközt fejlesztettek zearalenon dúsítására és kimutatására, *sub-ppb* tartományú érzékenységgel. A *chip*en belül lezajlik a minta előkészítése, a MIP-alapú dúsítás, majd a fluoreszcens detektálás, így a teljes analízis néhány perc alatt elvégezhető minimális reagensfelhasználással.

BOSMAN ÉS MTSAL. (2024) 3D-nyomtatott moduláris mikroeszközöket mutattak be, ahol külön modulok felelnek a szűrésért, az extrakcióért és a detektálásért. Az ilyen moduláris felépítés előnye, hogy az egyes egységek feladat- és mátrixspecifikusan cserélhetők, így ugyanaz a platform különböző mikotoxinok és különböző élelmiszer-mátrixok vizsgálatára is adaptálható. A 3D-nyomtatás ráadásul lehetővé teszi az eszközök gyors, olcsó és testre szabott előállítását.

A mikrofluidikai *chipek* legfontosabb gyakorlati előnye a reagens és oldószerek drasztikusan csökkentett igénye, a rövid analízisidő (gyakran 10 perc alatti teljes vizsgálati idő), valamint az automatizálhatóság. Ha ezeket a *chipeket* optikai olvasókkal vagy Bluetooth-kapcsolatú

minipotenciószátókkal kombináljuk, nagyon közel kerülünk ahhoz az eszköztípushoz, amely decentralizált, hálózatba kapcsolt mikotoxin-monitoringot valósíthat meg.

8.6. Mesterséges intelligencia és „okos” bioszenzorok

A bioszenzor-technológia ma már nem áll meg a jel generálásánál: legalább ilyen fontos, hogyan értelmezzük a kapott adatokat. Itt lép be a képbe a mesterséges intelligencia és a gépi tanulás.

Az „okos” bioszenzorok jellemzően képi vagy időfüggő jeleket állítanak elő. Kolorimetriás LFIÁ-knál a csík intenzitását, fluoreszcens szenzoroknál a fénykibocsátás térbeli és időbeli mintázatát kell számszerűsíteni, elektrokémiai aptaszenzoroknál pedig áram-idő vagy impedancia-frekvencia görbéket kell értelmezni. A modern szoftverek és mobilalkalmazások képesek automatikusan feldolgozni ezeket a nyers adatokat, osztályozni a mintákat (negatív, gyanús, nem megfelelő) és becslést adni a koncentrációra.

Kutatók olyan koncepciót vázolnak fel, amelyben a bioszenzorok nem önálló szigetek, hanem felhőalapú adatbázisokhoz és ML-modellekhez kapcsolódó szenzornódok (CHEN ÉS MTSAL, 2024). A terepen mért adatok valós időben kerülnek fel a rendszerbe, ahol automatikus kalibráció, *drift-korrektúra* és trendanalízis történik. Így szennyezettségi hőtérképek készíthetők, riasztások generálhatók, és a mért adatok hosszú távon nyomon követhetők – akár *blockchain*réteg segítségével is –, támogatva a 2023/915/EU rendelet szerinti dokumentálási és nyomonkövetési követelményeket (EUROPEAN COMMISSION, 2023).

Ez a digitális réteg teszi a bioszenzort valóban „okossá”: nem pusztán mérőeszköz, hanem egy kiterjedt élelmiszer-biztonsági megfigyelőhálózat része, amely adatokat szolgáltat kockázatmodellezéshez és döntéstámogatáshoz is.

8.7. A bioszenzorplatformok összehasonlító áttekintése

Az eltérő bioszenzorplatformok közötti különbségeket és alkalmazhatóságukat az 6. táblázat foglalja össze. A táblázat bemutatja a fő felismerő elemeket, a jelátalakítás módját, a tipikus kimutatási határokat, a vizsgálati időt, a *multiplex*képességet és az egyes megoldásokhoz kapcsolódó fontosabb irodalmi példákat.

6. táblázat. Bioszenzorplatformok mikotoxinok kimutatására

Platform típusa	Felismerő elem	Jel módja	LOD (ng·mL ⁻¹)	Vizsgálati idő	Multiplex	Irodalom
LFIA (kolorimetriás)	Ellenanyag	AuNP színváltozás	0,1–1,0	5–10 perc	Korlátozott	TANG ÉS MTSAL. (2024); WU ÉS MTSAL. (2024)
LFIA (fluoreszcens/nanoenzim)	Ellenanyag/apramer	Fluoreszcencia + kolorimetriás jel	0,01–0,2	~5 perc	Igen	CAI ÉS MTSAL. (2023); ZHU ÉS MTSAL. (2024)
Elektrokémiai aptaszenzor	Aptamer	Amperometriás / impedancia	0,01–0,05	<10 perc	Közepes	YAN ÉS MTSAL. (2024); THATI ÉS MTSAL. (2024)
Optikai aptaszenzor	Aptamer vagy MIP	Fluoreszcens / kolorimetriás	0,002–0,05	<10 perc	Igen	LU ÉS MTSAL. (2023); HUA ÉS MTSAL. (2024)
Mikrofluidikai chip	MIP, aptamer	Fluoreszcencia / elektrokémiai	0,001–0,01	<10 perc	Magas	HUA ÉS MTSAL. (2024); BOSMAN ÉS MTSAL. (2024)

(Forrás: CAI ÉS MTSAL. [2023]; TANG ÉS MTSAL. [2024]; HUA ÉS MTSAL. [2024]; WU ÉS MTSAL. [2024]; YAN ÉS MTSAL. [2024]; THATI ÉS MTSAL. [2024]; ZU ÉS MTSAL. [2024] alapján készült)

8.8. Kitekintés és jövőbeli trendek

A bioszenzoros mikotoxin-analitika nagyjából ott tart ma, ahol az LC-MS/MS állt egy-két évtizede: a technológia már egyértelműen bizonyított, de a széles körű, szabványosított alkalmazás és a teljes jogi elfogadottság még kialakulóban van. A fejlesztési irányok azonban jól láthatók.

Várható, hogy egyre inkább olyan rendszerek jelennek meg, amelyek reagensmentes vagy minimális reagenses érzékelést valósítanak meg MIP-ek, nanoenzimek és más hibrid anyagok segítségével. A jövő platformjai önkalibrálóak lesznek, mesterséges intelligencia segítségével kompenzálják a szenzorok *driftjét*, a hőmérséklet- és mátrixhatásokat, és automatikusan adaptálják a kalibrációs modelleket új adatmintákhoz.

A vezeték nélküli adatmegosztás, az IoT-kompatibilis szenzornódok és a *blockchain*- vagy felhőalapú háttérrendszerek integrációja azt vetíti előre, hogy a bioszenzorok nemcsak egyedi méréseket szolgáltatnak majd, hanem egy folyamatos, adatvezérelt élelmiszerlánc-felügyeleti rendszer elemei lesznek. Az aptamerek, nanoanyagok, mikrofluidikai *chipek* és AI-modellek kombinációja realisztikus jövőképet rajzol fel: laboratóriumi szintű pontosság válhat elérhetővé terepi körülmények között is, beleértve az erőforrásszegény régiókat.

A több mikotoxin együttes előfordulása, a klímaváltozás okozta kockázati mintázátátrendeződs és a globális kereskedelem komplexitása mellett ezek az intelligens bioszenzorplatformok kulcsszereplői lehetnek a folyamatos, proaktív, adatvezérelt kockázatmenedzsmentnek. A fejezet korábbi részeiben bemutatott LC-MS/MS-, LC-HRMS- és spektroszkópiai módszerek a megerősítő, jogilag hiteles analitika pillérei maradnak, míg a bioszenzorok és okos monitoring rendszerek a gyors szűrés, a korai riasztás és a döntéstámogatás frontvonalát adják majd a modern mikotoxin-felügyeletben.

9. Új trendek és jövőbeli perspektívák

9.1. Bevezetés

A mikotoxin-analízis az egyszerű kémiai tesztektől eljutott egy multidiszciplináris területig, amely ötvözi az analitikai kémiát, az adattudományt és az anyagtudományt. Az elmúlt évtizedekben a *single-toxin* méréstől az integrált, *multiomikai* és intelligens érzékelő rendszerekig fejlődött.

Ahogy a globális élelmiszer-biztonság egyre komplexebb kihívásokkal szembesül – a klímaváltozás okozta gombaflóra-eltolódásoktól a globalizált kereskedelemig –, a mikotoxin-analízis jövője a gyorsaságon, érzékenységen, automatizáláson és digitális integráción múlik.

9.2. A mikotoxin-analízis történeti fejlődése (1950-es évektől a 2030-as évekig)

9.2.1. 1950–1970-es évek – Alapvető kémiai és immunológiai technikák

Az első mikotoxin-felfedezések (aflatoxinok, ochraoxin A) vékonyréteg-kromatográfiára (TLC) és UV/fluoreszcens detektálásra épültek. Ezek félkvantitatív módszerek voltak, de megteremtették az igényt a reprodukálható toxinszűrésre. A *radioimmunoassay* (RIA) és korai ELISA-tesztek növelték az áteresztőképességet (BOENKE, 1998).

9.2.2. 1980–1990-es évek – Kromatográfiás konszolidáció és minőségügyi keretek

A HPLC fluoreszcens vagy UV-detektálással vált standarddá, párhuzamosan megjelentek az első EU- és *Codex*-standardok, formalizálva a teljesítménykritériumokat és a minőségbiztosítási elveket (KRSKA ÉS MTSAL, 2006).

9.2.3. 2000-es évek – Többkomponenses vizsgálatok és LC-MS/MS

Az ESI és a tandem tömegspektrometria elterjedésével a laborok fokozatosan áttértek a *multi-toxin* módszerekre. Az LC-MS/MS *ppb* alatti érzékenységet és nagy specifitást biztosított, akár 20-50 mikotoxin egyidejű meghatározásával (ABREU ÉS MTSAL, 2023). Az ISO 17025 és a 2002/657/EK szerinti QA-elvek konszolidálódtak.

9.2.4. 2010-es évek – Nagyfelbontású és adatvezérelt analitika

A HRMS (*Orbitrap*, *Q-TOF*) és a nem-célzott analízis (NTA) lehetővé tette új, módosított mikotoxinok és metabolitok azonosítását (ZHANG ÉS MTSAL, 2023b; VERRI HERNANDES ÉS WARTH, 2024). Megjelentek ML-algoritmusok spektrumdekonvolúcióra és osztályozásra (DHAKAL ÉS MTSAL, 2023).

9.2.5. 2020-as évek – Miniaturizálás, integráció és intelligens érzékelés

Hordozható, okos és multiplex bioszenzorok jelentek meg, amelyek a mikrofluidikát, aptamereket, nanoenzimeket és okostelefonos analitikát integrálják (CAI ÉS MTSAL, 2023; WU ÉS MTSAL, 2024; CHEN ÉS MTSAL, 2024). AI-modellek valós idejű kvantifikálást és felhőalapú kockázatértékelést tesznek lehetővé (GBASHI ÉS NJOBEH, 2024). A 2023/915/EU rendelet tovább erősítette a szabályozási harmonizációt.

9.2.6. 2030–50-es évek (várható) – Autonóm és prediktív analitikai ökoszisztémák

A jövőben várhatóan összeolvadnak az autonóm mintavételi rendszerek, az AI-vezérelt önkalibrálás és a *blockchain* alapú nyomon követés. Az analitikai hálózatok a statikus laborvizsgálatoktól a folyamatos, prediktív monitorozás felé mozdulnak, integrálva a távoli szenzorokat, környezeti modellezést és expozomikai adatokat.

9.3. Mesterséges intelligencia és automatizálás integrációja

A mesterséges intelligencia az analitikai lánc minden lépését érinti – a spektrális előfeldolgozástól a döntéstámogatásig. ML- és DL-modellek (pl. CNN-ek) értelmezik a hiperspektrális és Raman-képalkotási adatokat a szennyezett szemek osztályozására (KIM ÉS MTSAL, 2023a; ZHU ÉS MTSAL, 2023).

Felhőalapú AI-platformok képesek az abnormális spektrális mintázatok automatikus jelzésére és a szenzorok újrakalibrálására (CHEN ÉS MTSAL, 2024). Az automatizált *lab-on-a-chip* rendszerek egy modulban kombinálják a mintavételt, kivonást és detektálást (HUA ÉS MTSAL, 2024; BOSMAN ÉS MTSAL, 2024). AI-alapú mintázatfelismeréssel ezek az eszközök folyamatos üzemeltetésre alkalmasak gyártósorokon, a tételes vizsgálatokat valós idejű folyamatirányítássá alakítva.

9.4. A fenntartható és „zöld” analitikai kémia felé

A fenntarthatóság az analitikai innováció fontos dimenziójává vált. A cél az oldószerfelhasználás, energiaigény és hulladéktermelés minimalizálása, például zöld minta-előkészítési stratégiákkal (QuEChERS, FPSE, különféle mikroextrakciós módszerek) (MOGHADDAM ÉS MTSAL, 2024; HU ÉS MTSAL, 2024).

A 3D-nyomtatott mikroeszközök (BOSMAN ÉS MTSAL, 2024) és az oldószermentes spektroszkópiai szenzorok (FOMINA ÉS MTSAL, 2024) *ecohatékony*, újrahasznosítható analitikai platformok felé mutatnak. A fenntartható tervezés magában foglalja a biológiailag lebomló polimereket, megújuló nanoanyagokat és AI-optimalizált munkafolyamatokat, amelyek csökkentik a munka- és reagensigényt.

9.5. Multiomikai és expozomikai integráció

A fejlett analitikai stratégiák egyre inkább összekötik a klasszikus kémiát a molekuláris biológiával és a rendszerszemlélettel. Az LC–HRMS-alapú expozomika egyesíti a célzott (MRM) és nem-célzott (SWATH) adatgyűjtést egy futtatásban (VERRI HERNANDES ÉS WARTH, 2024), lehetővé téve az ismert toxinok kvantifikálását és újonnan megjelenő metabolitok felfedezését.

Transzkriptomikai, metabolomikai és volatilomikai vizsgálatok kiegészítő információt adnak a gazda-kórokozó kölcsönhatásokról, támogatva a szennyeződés dinamikájának mechanisztikus értelmezését. Az omikai adatok ML-modellekkel való integrációja prediktív kockázattérképezést tesz lehetővé (CASTANO-DQUE ÉS MTSAL, 2023).

9.6. Digitális nyomon követhetőség és szabályozási konvergencia

A jövő mikotoxin-felügyelete digitálisan nyomon követhető analitikai hálózatokra épül. A *blockchain*-technológia biztosíthatja az adatok integritását a helyszíni szenzoroktól a szabályozói adatbázisokig, míg az IoT-alapú „okos” csomagolás képes a szennyeződés monitorozására a teljes ellátási láncban (KHAN ÉS MTSAL, 2024).

Az EU-, ISO- és Codex-standardok közötti nemzetközi harmonizáció kulcsfontosságú marad az adatok összehasonlíthatósága és a kereskedelmi megfelelés szempontjából. Az új bioszenzorok és AI-vezérelt műszerek ugyanazon metrológiai nyomon követhetőségi és bizonytalanságbecslési elvek szerint kerülnek validálásra, mint az LC–MS/MS-módszerek (ZHANG ÉS MTSAL, 2023b; ABREU ÉS MTSAL, 2023).

9.7. Jövőbeli irányok

- Hibrid analitikai platformok terjednek el, amelyek HRMS-megerősítést kombinálnak hordozható bioszenzoros előszűréssel;
- AI-vezérelt kockázat-előrejelzés integrálja az időjárási, genetikai és kereskedelmi adatokat;
- Globális adatbázisok kapcsolják össze a mikotoxin-kitettséget az egészségügyi kimenetekkel;
- Automatizált bizonytalanságjelentés épül be a digitális műszerekbe;
- A körforgásos kémia és *eco-design* elvei egyre inkább átszövik a módszerfejlesztést.

Végső soron az analitikai rendszerek a pusztán detektálás eszközeiből a megelőzés és predikció eszközeivé alakulnak, valós idejű információt és döntéstámogatást nyújtva az élelmiszer-termelési lánc minden szintjén.

10. Összefoglalás és következtetések

A mikotoxin-analízis az elmúlt évtizedekben az egyszerű, egykomponensű kémiai tesztekkel egy magasan integrált, multidiszciplináris rendszer felé fejlődött, amelyben a klasszikus kromatográfiai eljárások, a spektroszkópiai technikák, a bioszenzorplatformok és a digitális adatkezelés egymást kiegészítő szerepet töltenek be. A fejezet áttekintette a mikotoxinok toxikológiai és gazdasági jelentőségét, az expozíciós utak komplexitását, valamint azokat a technológiai és szabályozási kereteket, amelyek meghatározzák a jelenlegi analitikai gyakorlatot.

A kromatográfiai módszerek, különösen az LC–MS/MS- és HRMS-alapú platformok, továbbra is az élelmiszer- és takarmányminták mikotoxin-meghatározásának „*gold standardját*” jelentik. Ezek biztosítják azt az érzékenységet, szelektivitást és metrológiai nyomon követhetőséget, amelyre a jogszabályi megfelelés, a határérték-közelbeli döntések és a *multiomikai*, expozomikai vizsgálatok építhetők. Ugyanakkor a nagy műszerigény, a szakképzett személyzet szükségessége

és a viszonylag alacsony mintaszám-specifikus áteresztőképesség indokolttá teszi olyan komplementer technikák fejlesztését, amelyek a teljes analitikai láncot hatékonyabbá teszik.

A nem kromatográfiás, spektroszkópiai megközelítések – FTIR-ATR, NIR, Raman/SERS, fluoreszcens és hiperspektrális képalkotás – gyors, roncsolásmentes és részben helyszíni alternatívát kínálnak a tömeges szűrésre. Bár közvetett, félkvantitatív jellegük miatt kalibrációt és referencia-analitikai megerősítést igényelnek, a modern kemometria és AI-alapú adatfeldolgozás révén potenciálisan mintaelőszűrés és korai riasztási eszközként pozicionálhatók. A spektroszkópia így nem versenytársa, hanem stratégiai partnere a kromatográfiának egy kétlépcsős, szűrés + megerősítés típusú analitikai architektúrában.

A bioszenzorok és intelligens detektálási platformok – immunesztek, aptaszenzorok, nanoanyagokkal erősített rendszerek és mikrofluidikai *lab-on-a-chip* eszközök – a miniaturizálás, a molekuláris specificitás és a digitális konnektivitás metszéspontjában helyezkednek el. Ezek a rendszerek lehetővé teszik a gyors, terepi, gyakran *multiplex* mikotoxin-kimutatást, amely okostelefonos kiolvasással és felhőalapú feldolgozással kombinálva az élelmiszerlánc különböző pontjain is bevethető. A nanotechnológia és az aptamer-MIP kémia fejlődése várhatóan tovább javítja az érzékenységet és a robusztusságot, miközben a mikrofluidika automatizálja a mintakezelést és csökkenti a reagensigényt.

A minőségbiztosítás, módszervalidálás és szabályozási környezet kulcsfontosságú annak biztosításához, hogy az új analitikai platformokból származó adatok összehasonlíthatók, visszakövethetők és jogilag is védhetők legyenek. Az EU-rendeletek, a *Codex*-standardok, az ISO- és AOAC-keretrendszerek, valamint a referenciaanyagok és körvizsgálatok együtt alakítják ki azt a metrológiai gerincet, amelyhez a hagyományos és új generációs módszerek egyaránt illeszkedni kötelesek. A jövőben várhatóan egyre nagyobb hangsúlyt kap a digitális QA, az automatizált teljesítménymonitorozás és az átlátható bizonytalanságkezelés.

A 9. fejezetben bemutatott trendek – AI-vezérelt adatfeldolgozás, zöld analitikai kémia, *multiomikai* integráció, digitális nyomon követhetőség és szabályozási konvergencia – azt jelzik, hogy a mikotoxin-analízis a reaktív detektálásból a proaktív, prediktív kockázatmenedzsment irányába mozdul. A hibrid rendszerek, amelyek hordozható bioszenzoros előszűrést kapcsolnak HRMS-megerősítéssel és felhőalapú kockázatértékeléssel, lehetőséget kínálnak egy olyan analitikai infrastruktúra kialakítására, amely egyszerre érzékeny, gyors, fenntartható és szabályozás-kompatibilis.

Összességében a mikotoxin-analízis jövője nem egyetlen „csodamódszer” elterjedésében, hanem komplementer technológiák intelligens integrációjában rejlik. A kromatográfia, spektroszkópia, bioszenzorok, QA-keretrendszerek és AI-eszközök egymásra épülő alkalmazása teremtheti meg azt a megbízható, dinamikus és adatvezérelt élelmiszer-biztonsági rendszert, amely képes lépést tartani a klímaváltozás, a globális kereskedelem és az újonnan megjelenő kockázatok kihívásaival.

11. Nemzeti mikotoxin-körkép 2023–2025: éves mintaszámok és terményenkénti átlagkoncentrációk

A 2023 és 2025 közötti időszakban Magyarországon végzett vizsgálatok nagy elemszámú adatai – a Mertcontrol Group akkreditált mintavevő szervezetének és vizsgáló laboratóriumának eredményei alapján – azt mutatják, hogy a főbb gabonafélék mikotoxin-szennyezettsége országos szinten jellemzően a vonatkozó európai uniós szabályozási küszöbértékek alatt maradt. Ugyanakkor az egyes termények, toxintípusok és évjáratok között számottevő eltérések figyelhetők meg, ami a kockázat differenciált értékelését és kezelését indokolja. Az eredményeket a 7. táblázat foglalja össze, termény- és toxintípusonkénti éves bontásban.

7. táblázat. Nemzeti körkép a mikotoxinszintek átlagos terményenkénti előfordulásáról 2023 és 2025 között a Mertcontrol Group vizsgálatai alapján

NEMZETI KÖRKÉP A MIKOTOXINSZINTEK ÁTLAGOS TERMÉNYENKÉNTI 2023-2025 ELŐFORDULÁSÁRÓL Mertcontrol Group – Magyarországon végzett vizsgálatainak száma adott toxin átlagos koncentrációja és szórása (µg·kg ⁻¹) és mátrixtípus vonatkozásában									
ÉV	2023			2024			2025		
Dezoxinivalenol									
	Elemsszám	Átlag	Szórás	Elemsszám	Átlag	Szórás	Elemsszám	Átlag	Szórás
árpa	787	219,0	335,4	425	138,6	288,0	230	39,0	216,8
búza	2372	96,3	212,5	2593	120,2	476,1	2095	62,2	318,2
durumbúza	140	102,3	249,2	120	250,5	807,4	256	396,4	1442,9
kukorica	2279	545,1	748,4	2377	73,9	185,3	1587	38,6	98,3
rozs	3	576,7	459,6	1	5,0	NA	1	5,0	NA
sörárpa	19	469,7	881,3	41	730,3	559,2	5	5,0	0,0
takarmányárpa	4	156,3	248,0	1	5,0	NA			
takarmánybúza	1	5,0	NA				1	290,0	NA
tönkölybúza							2	36,0	22,6
waxy kukorica	131	140,9	164,3	117	69,5	109,5	68	19,4	46,2
zab	1	200,0	NA	1	5,0	NA	9	28,6	46,6
Fumonizin [B1+B2+B3]									
	Elemsszám	Átlag	Szórás	Elemsszám	Átlag	Szórás	Elemsszám	Átlag	Szórás
árpa	21	17,3	10,5	2	15,0	0,0	1	15,0	NA
búza	60	15,3	2,6	22	15,8	3,8	34	19,4	10,7
durumbúza	1	15,0	NA				2	15,0	0,0
kukorica	366	637,0	3639,9	230	503,2	698,7	152	549,6	757,8
sörárpa	1	15,0	NA						
waxy kukorica	104	775,1	781,8	89	440,9	439,2	52	677,0	632,8
zab				1	15,0	NA			
T2 és HT2 toxin									
	Elemsszám	Átlag	Szórás	Elemsszám	Átlag	Szórás	Elemsszám	Átlag	Szórás
árpa	18	15,3	18,2	33	33,0	41,0	10	8,0	9,5
búza	55	5,2	0,9	443	6,1	4,7	379	5,2	1,6
durumbúza	3	6,7	2,9	11	8,5	7,9	17	5,0	0,0
kukorica	314	22,1	52,5	116	18,0	31,7	114	17,0	29,3
rozs							1	5,0	NA
sörárpa	1	5,0	NA	14	109,0	185,3			
waxy kukorica	112	12,1	26,0	82	8,8	14,4	51	11,0	13,5
zab				1	114,0	NA	2	24,5	9,2
Zearalenon									
	Elemsszám	Átlag	Szórás	Elemsszám	Átlag	Szórás	Elemsszám	Átlag	Szórás
árpa	78	5,2	12,1	69	5,7	20,3	28	2,5	0,0
búza	297	3,0	4,8	545	2,7	1,7	303	2,9	4,1
durumbúza	4	2,5	0,0	2	2,5	0,0	9	2,5	0,0
kukorica	635	73,7	153,2	463	25,3	117,8	191	4,8	21,8
sörárpa	1	2,5	NA				3	2,5	0,0
takarmánybúza	1	2,5	NA				1	2,5	NA
waxy kukorica	115	15,9	36,3	89	15,1	59,7	55	2,7	1,3
zab				1	2,5	NA	1	2,5	NA

(Forrás: Mertcontrol Group Magyarország kimutatása alapján)

A dezoxinivalenol (DON) esetében az átlagos szennyezettségi szintek a vizsgált időszakban nem jeleztek általános megfelelőségi problémát, különösen a búza és az árpa tekintetében. Ezzel szemben a kukoricában és egyes búzatípusokban – különösen a durumbúzában – tapasztalt nagy szórások arra utalnak, hogy egyes tételek esetében a szabályozási szintek megközelítése nem zárható ki, ami a célzott ellenőrzések indokoltságát erősíti.

A fumonizinek vonatkozásában az eredmények egyértelműen megerősítik, hogy a kockázat elsősorban a kukoricához és a speciális kukoricatípusokhoz kapcsolódik. Bár az átlagos koncentrációk nem utalnak széles körű megfelelőségi problémára, a jelentős tétel- és évjáratfüggő ingadozás miatt a fumonizinek továbbra is a hazai mikotoxin-monitoring kiemelt célpontjai közé tartoznak.

A T-2 és HT-2 toxinok esetében a legtöbb terményben mért koncentrációk alacsonyak és viszonylag stabilak voltak, ami összességében nem jelez fokozott megfelelőségi kockázatot. Ugyanakkor egyes terményeknél és éveken megfigyelt kiugró értékek rávilágítanak arra, hogy e toxinok szórványos előfordulása továbbra is releváns, különösen árpa és zab esetében.

A zearalenon (ZEN) előfordulása elsősorban a kukoricára koncentrálódott, ahol egyes évjáratokban emelkedettebb szintek jelentkeztek. Ezek az értékek összességében nem utalnak általános határérték-túllépési kockázatra, ugyanakkor jól szemléltetik, hogy a ZEN-szennyezettség jelentős évjárat ingadozást mutathat.

Összefoglalva, a 2023 és 2025 közötti hazai adatok alapján a gabonafélék mikotoxin-szennyezettsége országos szinten nem tekinthető kritikusnak, ugyanakkor a kimutatott variabilitás miatt nem homogén, és egyes termények esetében célzott figyelmet igényel. A bemutatott eredmények egyértelműen alátámasztják a folyamatos, kockázatalapú monitoring jelentőségét, amely alapvető feltétele az élelmiszer- és takarmánybiztonság fenntartásának.

12. Köszönetnyilvánítás

1. NKFIH alapból támogatott RRF-2.3.1-21-2022-00007 „AGRÁRBIOTECHNOLÓGIA ÉS PRECÍZIÓS NEMESÍTÉS AZ ÉLELMÉZÉSBIZTONSÁGÉRT” NEMZETI LABORATÓRIUM

2. „A növényi anyagcsere és az illékony biomarkerek komplex vizsgálata gabonafélék mikotoxin-termelő kalászfuzáriózis betegségével kapcsolatban a rezisztencia és a sütőipari minőségi jellemzők vonatkozásában” című pályázat; A [STARTING 152400] számú projekt a Kulturális és Innovációs Minisztérium, a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a [Nemzeti Kutatási Kiválósági Program STARTING_25 alprogram] pályázati konstrukció keretében valósult meg.”

Irodalom

- ABEL-AZIEM, S. H., HASSAN, A. M., & ABDEL-WAHAB, M. A. (2011). Dietary supplementation with whey protein and ginseng extract counteracts oxidative stress and DNA damage in rats fed an aflatoxin-contaminated diet. *Mutation Research*, 723(1), 65–71. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.04.007>
- ABREU, D. C. P., VARGAS, E. A., DA SILVA OLIVEIRA, F. A., MADUREIRA, F. D., GOMES, M. B., BAZZANA, M. J. F., & SACZK, A. A. (2023). Validation and estimation of uncertainty of an LC-MS/MS method for the simultaneous determination of 34 mycotoxins in cocoa beans. *Food Chemistry*, 399, 133902. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133902>
- AGRIOPOULOU, S., STAMATELOPOULOU, E. & VARZAKAS, T. (2020). Advances in occurrence, importance, and mycotoxin control strategies: prevention and detoxification in foods. *Foods*, 9(2), 137. <https://doi.org/10.3390/foods9020137>
- ANASTASSIADES, M., LEHOTAY, S. J., STAJNBAHER, D., & SCHENCK, F. J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, 86(2), 412–431. <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>

- ANASTASSIADES, M., SCHERBAUM, E., TASDELEN, B., & ŠTAJNBAHER, D. (2007). QuEChERS—A mini-multiresidue method for the analysis of pesticide residues in low-fat products. *Journal of AOAC International*, 90(2), 485–520. <https://doi.org/10.1093/jaoac/90.2.485>
- ANFOSSI, L., GIOVANNOLI, C., & BAGGIANI, C. (2016). Mycotoxin detection. *Current Opinion in Biotechnology*, 37, 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.11.005>
- AOAC INTERNATIONAL. (2007). *Official Method 2007.01: Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate*. Gaithersburg, MD, USA: AOAC International. <https://www.aoac.org/official-methods-of-analysis/>
- AOAC INTERNATIONAL (2016 and 2018). Guidelines for standard method performance requirements (SMPR) for chemical methods. *AOAC Official Methods of Analysis*, Appendix F. AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, MD, USA.
- ATES, M. B., & ORTATATLI, M. (2021). Phase-1 bioactivation mechanisms of aflatoxin through AhR, CAR and PXR nuclear receptors and the interactions with *Nigella sativa* seeds and thymoquinone in broilers. *Eco-toxicology and Environmental Safety*, 208, 111774. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111774>
- AWUCHI, C. G., ONDARI, E. N., OGBONNA, C. U., UPADHYAY, A. K., BARAN, K., OKPALA, C. O. R., KORZENIOWSKA, M., & GUINÉ, R. P. F. (2021). Mycotoxins Affecting Animals, Foods, Humans, and Plants: Types, Occurrence, Toxicities, Action Mechanisms, Prevention, and Detoxification Strategies-A Revisit. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(6), 1279. <https://doi.org/10.3390/foods10061279>
- BAE, H. K., & PESTKA, J. J. (2008). Deoxynivalenol induces p38 interaction with the ribosome in monocytes and macrophages. *Toxicological Sciences*, 105(1), 59–66. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfn102>
- BAIRD, L., YAMAMOTO, M. (2020). The molecular mechanisms regulating the KEAP1-NRF2 pathway. *Molecular and Cellular Biology*, 40(13), e00099-20. <https://doi.org/10.1128/MCB.00099-20>
- BARTÓK, T., SZÉCSI, Á., JUHÁSZ, K., BARTÓK, M., & MESTERHÁZY, Á. (2013). ESI-MS and MS/MS identification of the first ceramide analogues of fumonisin B₁ mycotoxin from a *Fusarium verticillioides* culture following RP-HPLC separation. *Food Additives & Contaminants*, 30(9), 1651–1659. <https://doi.org/10.1080/19440049.2013.809626>
- BARTÓK, T., TÖLGYESI, L., MESTERHÁZY, Á., BARTÓK, M., & SZÉCSI, Á. (2010). Identification of the first fumonisin mycotoxins with three acyl groups by ESI-ITMS and ESI-TOFMS following RP-HPLC separation: Palmitoyl-, linoleoyl- and oleoyl-EFB₁ fumonisin isomers from a solid culture of *Fusarium verticillioides*. *Food Additives & Contaminants*, 27(12), 1714–1723. <https://doi.org/10.1080/19440049.2010.521958>
- BESE, C., & HAMOW KAMIRÁN, Á. (2024). *Célzott toxinanalitikai módszer fejlesztése UPLC-UniSpray-MS/MS műszeregyüttesen*, BSc szakdolgozat (BME/HUN-REN ATK MGI, 2024 fejlesztett módszer).
- BioSupply Ltd. (2020). *ELISA technology for screening mycotoxin detection*. <https://www.elisakits.co.uk/blog/elisa-technology-for-screening-mycotoxin-detection>
- BOENKE, A. (1998). Method validation for mycotoxin determinations in food and feedstuffs. *Trends in Analytical Chemistry*, 17(1), 10–16. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(97\)00084-8](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(97)00084-8)
- BOSHRA, M. H., EL-HOUSSEINY, G. S., FARAG, M. M. S., & ABOSHANAB, K. M. (2023). Evaluation of ELISA and immunoaffinity fluorometric analytical tools of four mycotoxins in various food categories. *AMB Express*, 13(1), 123. <https://doi.org/10.1186/s13568-023-01629-5>
- BOSMAN, A. J., FREITAG, S., ROSS, G. M. S., SÜLYÖK, M., KRŠKA, R., RUGGERI, F. S., & SALENTIJN, G. I. J. (2024). Interconnectable 3D-printed sample-processing modules for portable mycotoxin screening of intact wheat. *Analytica Chimica Acta*, 1285, 342000. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2023.342000>
- CAI, X., MA, F., JIANG, J., YANG, X., ZHANG, Z., JIAN, Z., LIANG, M., LI, P., & YU, L. (2023). Fe–N–C single-atom nanozyme for ultrasensitive, on-site and multiplex detection of mycotoxins using lateral flow immunoassay. *Journal of Hazardous Materials*, 441, 129853. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129853>
- CASTANO-DUQUE, L., WINZELER, E., BLACKSTOCK, J. M., LIU, C., VERGOPOLAN, N., FOCKER, M., BARNETT, K., OWENS, P. R., VAN DER FELS-KLERX, H. J., VAUGHAN, M. M., & RAJASEKARAN, K. (2023). Dynamic geospatial modeling of mycotoxin contamination of corn in Illinois: unveiling critical factors and predictive insights with machine learning. *Frontiers in Microbiology*, 14: 1283127. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1283127>
- CHELI, F., CAMPAGNOLI, A., PINOTTI, L., FUSI, E., & DELL'ORTO, V. (2009). Sampling feed for mycotoxins: acquiring knowledge from food. *Italian Journal of Animal Science*, 8(1), 5–22. <https://doi.org/10.4081/ijas.2009.5>
- CHEN, Y., WANG, Y., ZHANG, Y., WANG, X., ZHANG, C., & CHENG, N. (2024). Intelligent biosensors promise smarter solutions in Food Safety 4.0. *Foods*, 13(2), 235. <https://doi.org/10.3390/foods13020235>
- CODEx ALIMENTARIUS COMMISSION (2023). General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed (CXS 193-1995). FAO/WHO, Rome, Italy. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B193-1995%252FCXS_193e.pdf

- COMMISSION REGULATION (EU) 2024/1022 of 8 April 2024 amending Regulation (EU) 2023/915 as regards maximum levels of deoxynivalenol in food https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=OJ:L_202401022
- COMMISSION REGULATION (EU) 2024/1038 of 9 April 2024 amending Regulation (EU) 2023/915 as regards maximum levels of T-2 and HT-2 toxins in food https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/HTML/?uri=OJ:L_202401038
- CSENKI, Z., BARTÓK, T., BOCK, I., HORVÁTH, L., LEMLI, B., ZSIDÓ, B. Z., ANGELI, C., HETÉNYI, C., SZABÓ, I., URBÁNYI, B., KOVÁCS, M., & POÓR, M. (2023). Interaction of Fumonisin B1, N-Palmitoyl-Fumonisin B1, 5-O-Palmitoyl-Fumonisin B1, and Fumonisin B4 Mycotoxins with Human Serum Albumin and Their Toxic Impacts on Zebrafish Embryos. *Biomolecules*, 13(5), 755. <https://doi.org/10.3390/biom13050755>
- DASI-NAVARRO, N., LOZANO, M., LLOP, S., VIOQUE, J., PEIRÓ, J., ESPLUGUES, A., MANYES, L., & VILA-DONAT, P. (2024). Associated factors with mycotoxin exposure in Spanish population. *Environmental Research*, 242, 117618. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117618>
- DHAKAL, K., SIVARAMAKRISHNAN, U., ZHANG, X., BELAY, K., OAKES, J., WEI, X., & LI, S. (2023). Machine learning analysis of hyperspectral images of damaged wheat kernels. *Sensors*, 23(7), 3523. <https://doi.org/10.3390/s23073523>
- ESBENSEN, K.H. (2020). *Introduction to the Theory and Practice of Sampling* (4th ed.). IM Publications Open, Chichester, UK. <https://books.google.hu/books?id=YGDozQEACAAJ>
- EURACHEM/CITAC (2012). *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement* (3rd ed.). Eurachem/CITAC Guide. https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf
- EUROPEAN COMMISSION (EC) (2002). Commission Decision 2002/657/EC implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. *Official Journal of the European Communities*, L221: 8–36. <https://eur-lex.europa.eu/eli/dec/2002/657/oj/eng>
- EUROPEAN COMMISSION (EC) (2006). Commission Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in food-stuffs. *Official Journal of the European Union*, L70: 12–34. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R0401&from=EN>
- EUROPEAN COMMISSION (EC) (2013). Commission Recommendation of 27 March 2013 on the presence of T-2 and HT-2 toxin in cereals and cereal products (2013/165/EU). *Official Journal of the European Union*, L91: 12–15. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=OJ:L:2013:091:FULL>
- EUROPEAN COMMISSION (EC) (2016). Guidance document on identification of mycotoxins and plant toxins in food and feed. *SANTE/12089/2016*. <https://www.scribd.com/document/862614721/sante-mycotoxins>
- EUROPEAN COMMISSION (EC) (2021). Commission Implementing Regulation (EU) 2021/808 of 22 March 2021 on the performance of analytical methods for residues of pharmacologically active substances used in food-producing animals and on the interpretation of results, as well as on the methods to be used for sampling and repealing Decisions 2002/657/EC and 98/179/EC. *Official Journal of the European Union*, L180: 84–109. EUR-Lex. https://eur-lex.europa.eu/eli/reg_impl/2021/808/oj/eng
- EUROPEAN COMMISSION (EC) (2021). Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. *SANTE/11312/2021v2026*. https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-11/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2021-11312.pdf
- EUROPEAN COMMISSION (EC) (2023). Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006. *Official Journal of the European Union*, L119: 103–157. EUR-Lex. <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2023/915/oj/eng>
- EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. (2018). Foods of plant origin—Multimethod for the determination of pesticide residues using GC- and LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE—Modular QuEChERS-method (EN 15662:2018). Brussels, Belgium: CEN. <https://doi.org/10.3403/30341724>
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2023). Scientific opinion on the risks to human and animal health related to the presence of mycotoxins in food and feed. *EFSA Journal*, 21, e07945. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7945>
- FAO (2001) Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2001). Safety evaluation of certain mycotoxins in food (FAO Food and Nutrition Paper No. 74). FAO. <https://openknowledge.fao.org/items/444c74a9-7ac7-4bf9-8729-4b69b716ba73>
- FAO (2006) Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2006). Mycotoxins in food: Detection and control (FAO Food and Nutrition Paper No. 81). FAO. <https://www.fao.org/4/AM810E/AM810E.pdf>
- FOMINA, P., FEMENIAS, A., TAFINTSEVA, V., FREITAG, S., SULYOK, M., ALEDDA, M., KOHLER, A., KRŠKA, R., & MIZAİKOFF, B. (2024). Prediction of deoxynivalenol contamination in wheat via infrared attenuated total reflection

- spectroscopy and multivariate data analysis. *ACS Food Science & Technology*, 4(4), 895–904. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.3c00674>
- FOSFA / MSZ EN ISO 21294:2017 – Olajos magvak mintavétele International Organization for Standardization. (2017). ISO 21294:2017 Oilseeds — Sampling. <https://www.iso.org/standard/68155.html>
- Federation of Oils, Seeds and Fats Associations Ltd. (FOSFA). (2018). FOSFA sampling rules. <https://www.fosfa.org/contracts/>
- GARRIDO-RODRÍGUEZ, D., ANDRADE, M. J., DELGADO, J., CEBRIÁN, E., & BARRANCO-CHAMORRO, I. (2024). Discovering potential biomarkers for Ochratoxin A production by *Penicillium nordicum* in dry-cured meat matrices through untargeted metabolomics. *Food Control*, 161, 110343. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110343>
- GBASHI, S., & NJOBEH, P. B. (2024). Enhancing food integrity through artificial intelligence and machine learning: a comprehensive review. *Applied Sciences*, 14(8), 3421. <https://doi.org/10.3390/app14083421>
- GERLACH, R. W., NOCERINO, J. M., BOWMAN, D. T., GATES, R. J. & WILCOX, J. S. (2002). Gy's sampling theory in environmental sampling. *Environmental Forensics*, 3(4), 345–353. <https://doi.org/10.1006/enfo.2002.0106>
- GMP+ (FEED SAFETY ASSURANCE) GMP+ INTERNATIONAL. (2020). GMP+ Feed Safety Assurance scheme. <https://www.gmpplus.org/feed-certification-scheme/>
- HAMOW, K. Á., AMBRÓZY, Z., PUSKÁS, K., MAJLÁTH, I., CSÉPLŐ, M., MÁTYUS, R., POSTA, K., LUKÁCS, P., & SÁGI, L. (2021). Emission of novel volatile biomarkers for wheat powdery mildew. *Science of the Total Environment*, 781, 146767. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146767>
- HU, S., YE, B., LI, H., YAN, P., CHEN, D., & ZHAO, M. (2024). Enhanced selectivity for convenient extraction of acidic mycotoxins using a miniaturized centrifugal integrated cold-induced phase separation. *Food Chemistry*, 454, 139715. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139715>
- Hua, M. Z., Li, S., Roopesh, M. S., & Lu, X. (2024). Development of a microfluidic device to enrich and detect zearalenone in food using quantum dot-embedded molecularly imprinted polymers. *Lab on a Chip*, 10, 2700–2711. <https://doi.org/10.1039/d4lc00193a>
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. (2009). ISO 24333:2009—Cereals and cereal products—Sampling. <https://www.iso.org/standard/42165.html>
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. (2016). ISO 17034:2016—General requirements for the competence of reference material producers. <https://www.iso.org/standard/29357.html>
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION & INTERNATIONAL ELECTROTECHNICAL COMMISSION. (2017). ISO/IEC 17025:2017—General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. <https://www.iso.org/standard/66912.html>
- JANIK, E., NIEMCEWICZ, M., PODOGROCKI, M., CEREMUGA, M., GORNIK, L., STELA, M., & BIJAK, M. (2021). The Existing Methods and Novel Approaches in Mycotoxins' Detection. *Molecules*, 26(13), 3981. <https://doi.org/10.3390/molecules26133981>
- JEDZINIAK, P., PANASIUK, L., PIETRUSZKA, K., KOLANO, K., & ZBYTNIIEWSKI, R. (2023). Inter-laboratory validation of liquid chromatography–tandem mass spectrometry multi-mycotoxin determination in animal feed – method transfer from the reference laboratory to regional laboratories. *Journal of Veterinary Research*, 67(3) 397–406. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2023-0045>
- JIN, L., LIU, W., XIAO, Z., YANG, H., YU, H., DONG, C., & WU, M. (2023). Recent advances in electrochemiluminescence biosensors for mycotoxin assay. *Biosensors*, 13(6), 653. <https://doi.org/10.3390/bios13060653>
- KHALILIPOUR, G., KARAMIBONARI, A. R., MOVASSAGHHAZANI, M., SHAYEGH, J., & AFSHAR MOGADDAM, M. R. (2024). MOF@N-doped carbon dots-based dispersive solid-phase extraction combined with dispersive liquid-liquid microextraction of several aflatoxins from raw cow's milk samples prior to HPLC–FLD. *Microchemical Journal*, 202, Article 110806. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110806>
- KHAN, S., MONTEIRO, J. K., PRASAD, A., FILIPE, C. D. M., LI, Y., & DIDAR, T. F. (2024). Material breakthroughs in smart food monitoring: intelligent packaging and on-site testing technologies for spoilage and contamination detection. *Advanced Materials*, 36(1), 2300875. <https://doi.org/10.1002/adma.202300875>
- KIM, Y.-K., BAEK, I., LEE, K.-M., KIM, G., KIM, S., KIM, S.-Y., CHAN, D., HERRMAN, T. J., KIM, N., & KIM, M. S. (2023a). Rapid detection of single- and co-contaminant aflatoxins and fumonisins in ground maize using hyperspectral imaging techniques. *Toxins*, 15(7), 472. <https://doi.org/10.3390/toxins15070472>
- KIM, Y.-K., QIN, J., BAEK, I., LEE, K.-M., KIM, S.-Y., KIM, S., CHAN, D., HERRMAN, T. J., KIM, N., & KIM, M. S. (2023b). Detection of aflatoxins in ground maize using a compact and automated Raman spectroscopy system with machine learning. *Current Research in Food Science*, 7, 100647. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100647>
- KRSKA, R., WELZIG, E., BERTHILLER, F., MOLINELLI, A., & MIZAIKOFF, B. (2006). Advances in the analysis of mycotoxins and its quality assurance. *Food Additives and Contaminants*, 22(4), 345–353. <https://doi.org/10.1080/02652030500070192>

- LAPRIS, M., ERRICO, M., ROCCHETTI, G., & GALLO, A. (2024). The potential of multi-screening methods and omics technologies to detect both regulated and emerging mycotoxins in different matrices. *Foods*, 13(11), 1746. <https://doi.org/10.3390/foods13111746>
- LIJALEM, Y. G., GAB-ALLAH, M. A., YU, H., CHOI, K., & KIM, B. (2024). Development of a corn-flour certified reference material for accurate determination of zearalenone. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 416: 3173–3183. <https://doi.org/10.1007/s00216-024-05265-1>
- LOGAN, N., CAO, C., FREITAG, S., HAUGHEY, S. A., KRŠKA, R., & ELLIOTT, C. T. (2024). Advancing mycotoxin detection in food and feed: Novel insights from surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS). *Advanced Materials*, 36(15), 2309625. <https://doi.org/10.1002/adma.202309625>
- LONG, Y., HUANG, Y., ZHU, M., MA, Y., GAN, B., WANG, Y., YU, Q., XIE, J., & CHEN, Y. (2023). Development of QuEChERS clean-up based on EMR-lipid for simultaneous analysis of 9 mycotoxins, acaylamide and 5-Hydroxymethylfurfural in biscuit by UHPLC-MS/MS. *Food chemistry*, 409, 135265. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135265>
- LU, L., YU, R., & ZHANG, L. (2023). AFB1 colorimetric aptamer sensor for the detection of AFB1 in ten different kinds of miscellaneous beans based on gold nanoparticles and smartphone imaging. *Food Chemistry*, 421, 136205. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136205>
- MOGHADDAM, N. B., FEIZY, J., ES'HAGHI, Z., & MALVANDI, A. M. (2024). Fabric phase sorptive extraction increases accuracy of LC–FLD determination of zearalenone in food samples. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*, 105(3), 3581–3593. <https://doi.org/10.1080/03067319.2024.2349201>
- MSZ EN ISO 24333:2010 Gabonafélék mintavétele International Organization for Standardization. (2010). ISO 24333:2010 Cereals and cereal products — Sampling. <https://www.iso.org/standard/42165.html>
- MSZ 6367-1:1983 – Élelmészeti, takarmányozási, ipari magvak és hántolt termények vizsgálata. Előkészítés és mintavétel.
- MSZ EN ISO 6497:2005 – Takarmányok mintavétele International Organization for Standardization. (2005). ISO 6497:2002 Animal feeding stuffs — Sampling. <https://www.iso.org/standard/12872.html>
- MSZ ISO 5500:1992 – Olajmagdarák mintavétele International Organization for Standardization. (1992). ISO 5500:1992 Oilseed residues — Sampling.
- MSZ ISO 5555:2001 – Állati és növényi zsírok és olajok mintavétele International Organization for Standardization. (2001). ISO 5555:2001 Animal and vegetable fats and oils — Sampling. <https://www.iso.org/standard/33287.html>
- MSZ CEN/TS 15568:2007 – GMO mintavétel European Committee for Standardization. (2007). CEN/TS 15568:2007 Foodstuffs — Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products — Sampling.
- NAZIM, T., LUSINA, A., & CEGŁOWSKI, M. (2023). Recent Developments in the Detection of Organic Contaminants Using Molecularly Imprinted Polymers Combined with Various Analytical Techniques. *Polymers*, 15(19), 3868. <https://doi.org/10.3390/polym15193868>
- NOLAN, P., AUER, S., SPEHAR, A., ELLIOTT, C. T., & CAMPBELL, K. (2019). Current trends in rapid tests for mycotoxins. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 36(5), 800–814. <https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1595171>
- NOTARDONATO, I., GIANFAGNA, S., CASTORIA, R., IANIRI, G., DE CURTIS, F., RUSSO, M. & AVINO, P. (2021). Critical review of the analytical methods for determining the mycotoxin patulin in food matrices. *Reviews in Analytical Chemistry*, 40(1), 144–160. <https://doi.org/10.1515/revac-2021-0131>
- PASCARI, X., WEIGEL, S., MARIN, S., SANCHIS, V., & MAUL, R. (2023). Detection and quantification of zearalenone and its modified forms in enzymatically treated oat and wheat flour. *Journal of Food Science and Technology*, 60, 1367–1375. <https://doi.org/10.1007/s13197-023-05683-6>
- RAHMAN, H. U., YUE, X., YU, Q., XIE, H., ZHANG, W., ZHANG, Q., & LI, P. (2019). Specific antigen-based and emerging detection technologies of mycotoxins. *J. Sci. Food Agric.*, 99(11), 4869–4877. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9686>
- RAKK, D., KUKOLYA, J., ŠKRBIĆ, B. D., VÁGVÖLGYI, C., VARGA, M., & SZEKERES, A. (2023). Advantages of multiplexing ability of the Orbitrap mass analyzer in multi-mycotoxin analysis. *Toxins*, 15(2), 134. <https://doi.org/10.3390/toxins15020134>
- SADOK, I., SZMAGARA, A., & KRZYSZCZAK, A. (2023). Validated QuEChERS-based UHPLC–ESI-MS/MS method for the postharvest control of patulin (mycotoxin) contamination in red-pigmented fruits. *Food Chemistry*, 400, 134066. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134066>
- SALIM, S. A., SUKOR, R., ISMAIL, M. N., & SELAMAT, J. (2021). Dispersive Liquid–Liquid Microextraction (DLLME) and LC-MS/MS Analysis for Multi-Mycotoxin in Rice Bran: Method Development, Optimization and Validation. *Toxins*, 13(4), 280. <https://doi.org/10.3390/toxins13040280>

- SARVER, R. W., KOSTIN, A. T., & STRONG, B. F. (2024). Analytical determination of aflatoxin in ground corn check samples completed by multiple laboratories over several years. *Foods*, 13(12), 1918. <https://doi.org/10.3390/foods13121918>
- SHEKHAR, R., RAGHAVENDRA, V. B., RACHITHA, P. (2025). A comprehensive review of mycotoxins, their toxicity, and innovative detoxification methods, *Toxicology Reports*, 14, 101952. <https://doi.org/10.1016/j.tox-rep.2025.101952>
- SORBO, A., PUCCI, E., NOBILI, C., TAGLIERI, I., PASSERI, D., & ZOANI, C. (2022). Food safety assessment: overview of metrological issues and regulatory aspects in the European Union. *Separations*, 9(2), 53. <https://doi.org/10.3390/separations9020053>
- STOEVS. D. (2024). Food Security and Foodborne Mycotoxicoses-What Should Be the Adequate Risk Assessment and Regulation? *Microorganisms*, 12(3), 580. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12030580>
- SZŐKE, Z., BABARCI, B., MÉZES, M., LAKATOS, I., POÓR, M., FLISZÁR-NYÚL, E., OLDAL, M., CZÉH, Á., BODÓ, K., NAGYÉRI, G., & FERENCZI, S. (2022). Analysis and comparison of rapid methods for the determination of ochratoxin A levels in organs and body fluids obtained from exposed mice. *Toxins*, 14(9), 634. <https://doi.org/10.3390/toxins14090634>
- TANG, Y., MA, P., KHAN, I. M., CAO, W., ZHANG, Y., & WANG, Z. (2024). Lateral flow assay for simultaneous detection of multiple mycotoxins using nanozyme to amplify signals. *SSRN Electronic Journal*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4837115>
- TEIXIDÓ-ORRIÉS, I., MOLINO, F., FEMENIAS LLANERAS, A., RAMOS, A., & MARÍN, S. (2023). Quantification and classification of deoxynivalenol-contaminated oat samples by near-infrared hyperspectral imaging. *Food Chemistry*, 417, 135924. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135924>
- THATI, R., SEETHA, B. S., ALEGETE, P., & MUDIAM, M. K. R. (2024). Molecularly imprinted dispersive micro solid-phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography for the determination of four aflatoxins in various foods. *Food Chemistry*, 433, 137342. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137342>
- TITTELMIER, S. A., CRAMER, B., DEROSA, M. C., DZUMAN, Z., MALONE, R., MARAGOS, C., SUMAN, M., & SUMARAH, M. W. (2024). Developments in mycotoxin analysis: an update for 2022–2023. *World Mycotoxin Journal*, 18(1), 3–26. <https://doi.org/10.1163/18750796-bja10002>
- TITTELMIER, S.A., CRAMER, B., DEROSA, M.C., DZUMAN, Z., KODIKARA, C., MALONE, R., MARAGOS, C., SUMAN, M., & SUMARAH, M.W. (2025). Developments in analytical techniques for mycotoxin determination: an update for 2023–24. *World Mycotoxin Journal*, 18(1), 3–30. <https://doi.org/10.1163/18750796-bja10013>
- TOMAS, M. K., MIJATOVIC, A., NEVISTIC, M. B., SARKANJ, B., BABIC, J., & KOVAC, T. (2023). How different microfilters affect the recovery of eleven EU-regulated mycotoxins. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 74(1), 8–15. <https://doi.org/10.2478/aiht-2023-74-3693>
- TÖLGYESI, Á. (2021). *Gyakorlati példák a folyadékkromatográfiával kapcsolt hármass kvadrupol rendszerű tandem tömegspektrometria élelmiszer-, bio- és textilanalitikai alkalmazására*. Budapest: Gen-Lab Kft. 215 p. https://www.researchgate.net/publication/322499902_Folyadékkromatografias_harmass_kvadrupol_rendszertandem_tomegspektrometriai_modszerek_a_gyakorlatban_peldak_elelmiszer-es_bioanalitikai_alkalmazasokra
- TÖLGYESI, Á., & FEKETE, J. (2017). *Folyadékkromatográfiás hármass kvadrupol rendszerű tandem tömegspektrometriás módszerek a gyakorlatban: példák élelmiszer- és bioanalitikai alkalmazásokra*. Budapest: Gen-Lab Kft.
- TÖLGYESI, Á., & TÓTH, E. (2024). *Saját fejlesztésű és szabványos LC-MS/MS módszerek peszticidekre és toxinokra*. Fót: Mertcontrol Hungary Kft. 156 p. https://www.researchgate.net/publication/394497284_Saját_fejlesztesu_es_szabvanyos_LC-MSMS_modszerek_peszticidekre_es_toxinokra
- TURNER, N. W., SUBRAHMANYAM, S., & PILETSKY, S. A. (2009). Analytical methods for determination of mycotoxins: a review. *Analytica chimica acta*, 632(2), 168–180. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.11.010>
- VERRI HERNANDES, V., & WARTH, B. (2024). Bridging targeted (ZEARo MRM–HR) and untargeted (SWATH) LC–HRMS in a single run for sensitive exposomics. *Analytical Chemistry*, 96(31), 12710–12717. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.4c01630>
- WANG, L.-A., & KUNG, T.-A. (2024). Determination of ochratoxin A in brown rice through a rapid, straightforward strategy based on FaTEx coupled with high-performance liquid chromatography–fluorescence detection. *Food Control*, 162, 110425. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110425>
- WANG, Y., LI, Y., LUO, Y., ZHOU, K., QIU, X., & GUO, H. (2022). A novel molecularly imprinted polymer material for the recognition of ochratoxin A. *Journal of Polymer Research*, 29, 158. <https://doi.org/10.1007/s10965-022-03005-6>
- WANG, Y., ZHANG, C., WANG, J., & KNOPP, D. (2022). Recent progress in rapid determination of mycotoxins based on emerging biorecognition molecules: A review. *Toxins*, 14(2), 73. <https://doi.org/10.3390/toxins14020073>

- WU, W., LI, Y., SONG, P., XU, Q., LEI, D., WANG, J., FU, B., & KONG, W. (2024). UiOL@AIEgens-assisted lateral flow immunosensor for ultrasensitive dual-modal point-of-care detection of aflatoxin B₁. *Journal of Hazardous Materials*, 465, 133103. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.133103>
- YAN, K., DING, Y., LIU, X., LIU, J., & ZHANG, J. (2024). Portable self-powered electrochemical aptasensing platform for ratiometric detection of mycotoxins. *Analytica Chimica Acta*, 1299, 342442. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2024.342442>
- YANG, X.-S., ZHAO, J., MA, T.-T., LI, Z.-Y., WANG, L.-L., JI, S.-L., SUN, M.-Y., LIU, Y.-S., HU, Z.-H., LIU, Q.-W., JIN, C.-W., SUN, S.-Y., & GONG, H.-S. (2023). Magnetic covalent organic framework for effective solid-phase extraction and HPLC determination of ochratoxin A in food. *LWT*, 179, 114639. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114639>
- ZHANG, K., TRAN, I., & PHILLIPS, M. M. (2023a). Ochratoxin A case study: establishing metrological traceability of mycotoxin measurements using certified reference materials. *Journal of Food Science*, 89(2), 1252–1260. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16878>
- ZHANG, Y., CHEN, T., CHEN, D., LIANG, W., LU, X., ZHAO, C., & XU, G. (2023b). Suspect and non-target screening of mycotoxins and their modified forms in wheat products based on ultrahigh-performance liquid chromatography–high-resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1708, 464370. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2023.464370>
- ZHAO, Y., CHEN, W., FANG, H., ZHANG, J., WU, S., YANG, H., & ZHOU, Y. (2024). Ratiometric fluorescence immunoassay based on silver nanoclusters and calcein–Ce³⁺ for detecting ochratoxin A. *Talanta*, 269, 125470. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2023.125470>
- ZHENG, M. Z., RICHARD, J. L., & BINDER, J. (2006). A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins. *Mycopathologia*, 161, 261–273. <https://doi.org/10.1007/s11046-006-0215-6>
- ZHU, H., YANG, L., & HAN, Z. (2023). Quantitative aflatoxin B₁ detection and mining key wavelengths based on deep learning and hyperspectral imaging. *Computers and Electronics in Agriculture*, 206, 107561. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2022.107561>
- ZHU, X., TANG, J., OUYANG, X., LIAO, Y., FENG, H., YU, J., CHEN, L., LU, Y., YI, Y., & TANG, L. (2024). A versatile CuCo@PDA nanozyme-based aptamer-mediated lateral flow assay for highly sensitive, on-site and dual-readout detection of aflatoxin B₁. *Journal of Hazardous Materials*, 465, 133178. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.133178>

Developments and applications of mycotoxin analytical methods – traditional and modern approaches in the service of food chain safety

Kamirán Áron Hamow¹  ^{1*} Gábor Párkányi²

¹ HUN-REN Centre for Agricultural Research, Agricultural Institute, Dep. of Plant Physiology and Metabolomics

² Mertcontrol Hungary Ltd.

Summary

Mycotoxins represent one of the most significant and complex chemical risk factors in the food and feed chain, posing major challenges for reliable analytical determination due to their high toxicological relevance, low concentration levels and pronounced spatial heterogeneity. Consequently, the validity of mycotoxin analysis does not rely solely on the performance of advanced instrumental techniques, but on the integrated quality and representativeness of the entire workflow, from sampling design through homogenization and sample preparation to data evaluation. Over recent decades, liquid chromatography coupled with tandem and high-resolution mass spectrometry, isotopic dilution approaches, and the application of certified reference materials and reference materials have enabled substantial progress in sensitive and multi-analyte mycotoxin determination. At the same time, it has become evident that the dominant contribution to overall measurement uncertainty originates from sampling, subsampling and homogenization, frequently exceeding variability arising from instrumental analysis. This chapter therefore adopts an integrated perspective on representative mycotoxin analysis, linking the principles of the Theory of Sampling (TOS), the European and international regulatory framework, and ISO-based quality assurance and accreditation requirements with state-of-the-art extraction, clean-up and detection strategies. In addition to classical laboratory-based methods, the chapter addresses immunochemical, spectroscopic, biosensor-based and data-driven approaches, as well as emerging future directions. The chapter serves both as a comprehensive professional reference and as an educational resource for researchers, students, testing laboratories, regulatory authorities and decision-makers, supporting the understanding, design and practical implementation of harmonized, robust and future-proof mycotoxin monitoring systems.

Keywords: Mycotoxin analysis, LC–MS/MS and HRMS methods, Multitoxin quantification, Sampling uncertainty and homogenization, Biosensors for food safety applications.