



Effect of ambient temperature and restricted feeding on the production of rabbit does and their kits[‡]

Zsolt Szendrő^{1*}, Zoltán Papp², Károly Kustos³

¹Kaposvár University, Kaposvár, Hungary; ²University of Veterinary Medicine, Budapest, Hungary;
³Szent István University, Gödöllő, Hungary

ABSTRACT - Thirty-six lactating New Zealand White rabbit does were divided into 6 groups according to ambient temperature and feed intake. The does were kept at 20 °C during pregnancy and at kindling, then they were put into climatic chambers at temperatures of 5, 15, 23 or 30 °C. One part of the does were fed *ad libitum* (5A, 15A, 23A and 30A), two other groups were housed at 15 °C, but they received the same amount of pellet as the does' intake at 23 °C or 30 °C (15/23R and 15/30R). The litter sizes were equalized to seven. The weight of does, milk production, feed intake and water intake were recorded daily. Heat stress reduced milk yield (148, 152, 150 and 106 g/day), feed intake (287, 279, 260 and 179 g/day) and water intake (497, 512, 526 and 428 g/day), but increased the water/feed ratio (1.73, 1.84, 2.02 and 2.39) in the groups of 5A, 15A, 23A and 30A, respectively. Body weight of does decreased at 23 °C and 30 °C by 5.6% and 8.5%, respectively, compared to 15 °C. Comparing the groups of rabbits kept at 23 °C and 30 °C fed *ad libitum* (23A and 30A) and the data obtained for groups of 15/23R and 15/30R it was observed that the milk yield decreased by 8.0% and 2.5%, water intake increased by 8.6 and 13.3%, and the feed/water ratio was higher by 0.18 and 0.18, respectively. The effect of heat stress was less significant on kits than on does. It can be concluded that the high ambient temperature mainly affected the milk production through the reduction of feed intake.

Keywords: rabbit does, ambient temperature, restricted feeding, milk production, feed intake, water intake

INTRODUCTION

Recent weather reports show that the incidences of summer heat waves have been increasing with rising temperature. Probably the global warming will have severe impacts on the physiology and reproduction of mammals of both sexes (Takahashi, 2012). The effect of ambient temperature on animals' production has been investigated for a long time. Nowadays, due to the global warming, more and more researchers work on this area (Gill *et al.*, 2010). The ambient temperature has influenced some physiological parameters of domestic rabbits (Boiti *et al.*, 1992; Chiericato *et al.*, 1997; Kalaba, 2012) and directly or indirectly influenced the feed intake, the reproduction and production performance (Stephan, 1980; Fernández-Carmona *et al.*, 1995; Marai *et al.*, 2002; Mousa-Balabel, 2004; Zeferino *et al.*, 2011; Bakr *et al.*, 2015).

[‡]*Note:* This paper is a new evaluation of the results of a previous proceeding published on the 2. International Conference on Rabbit Production in Hot Climates, Adana, Turkey (Szendrő *et al.*, 1999).

*CORRESPONDING AUTHOR

Kaposvár University, Faculty of Agricultural and Environmental Sciences

✉ H-7400 Kaposvár, Guba S. str. 40., ☎ +36-82-505-800

E-mail: szendro.zsolt@ke.hu

Studies connected to milk production of rabbit does have been published since the 1960s. First results were summarized by *Lebas* (1975), later it was reviewed by *Maertens et al.* (2006). Connection between ambient temperature and milk production was discussed by *Rafai and Papp* (1984), *Fernández-Carmona et al.* (1995, 2000), *Askar and Ismail* (2012). All these experiments showed significant decrease in milk production of does kept under high temperature condition.

The aim of the experiment was to investigate the direct and indirect effect of ambient temperature of 5 °C, 15 °C, 23 °C and 30 °C on production of rabbit does and their kits. Beside the effect of temperature the performance of rabbits kept on 15 °C, but fed restricted on the levels of intake at 23 °C or 30 °C ambient temperature was also tested.

MATERIAL AND METHODS

The experiment was performed on multiparous New Zealand White does at the University of Veterinary Medicine (Hungary). The pregnant does (n=36) were fed *ad libitum* at ambient temperature of 20 °C till parturition. The diet contained 11.4 MJ DE/kg and 14% crude protein. Water was freely available. Six groups were formed, each group contained six does, and they were placed into climatic chambers. The following treatments were established:

- 5A: does kept on 5 °C, fed *ad libitum*,
- 15A: does kept on 15 °C, fed *ad libitum*,
- 23A: does kept on 23 °C, fed *ad libitum*,
- 30A: does kept on 30 °C, fed *ad libitum*,
- 15/23R: does kept on 15 °C and fed with daily amount of feed consumed by does in group 23 A,
- 15/30R: does kept on 15 °C and fed with daily amount of feed consumed by does in group 30 A.

At parturition the litter size was equalized to seven and the died kits were replaced with others out of the experiment with similar age and weight than the died ones. The daily milk production was measured by the difference in body weight of does immediately before and after nursing. The weight of does and litter, feed and water consumption were measured daily in the morning.

One-way ANOVA and T-test were applied for data evaluation.

RESULTS

Feed intake of does

After parturition the feed intake increased in each group (*Figure 1*), however the consumption of group 30A decreased already after the second day of lactation. During the next weeks the feed consumption of 30A does varied between 150 and 200 g/day. The consumption grew rapidly in the other groups and it reached higher level than 300 g/day between days 10 and 26 in 5A and 15A groups, but it was lower (between 250 and 300 g/day) in 23A group. The average daily feed intake of 5A, 15A, 23A and 30A does was 287, 279, 260 and 179 g, respectively. The differences between 15A and 23A, and between 15A and 30A group were 6.8% and 35.8%, respectively. The consumption of groups 23A and 15/23R and groups 30A and 15/30R was similar, which corresponds to the experimental design.

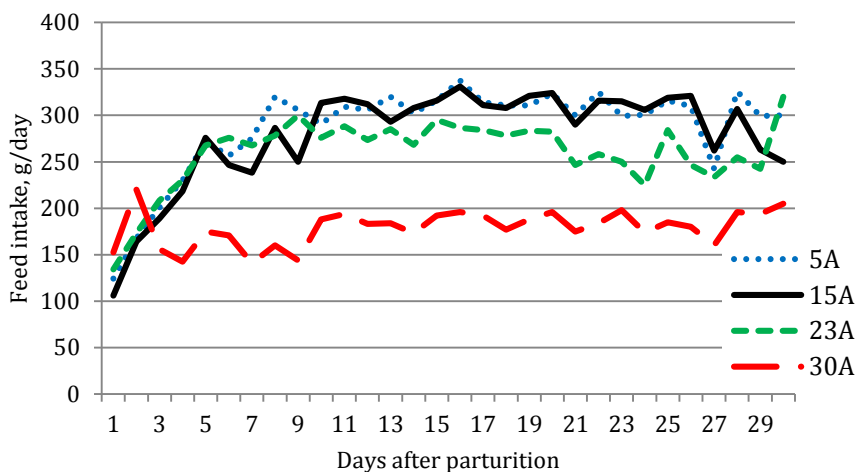


Figure 1: Effect of ambient temperature on feed intake of lactating does

Water consumption of does

In water consumption of experimental groups there were not as big differences as in feed consumption (*Figure 2*). Only the 30A does drank a little less water than does in the other groups. The average water consumption of 5A, 15A, 23A and 30A does was 497, 512, 526 and 428 g/day, respectively. Compared to 15A group, the 5A and 30A does drank less water by 2.9% and 16.4%, respectively, and 23A does drank 2.7% more water.

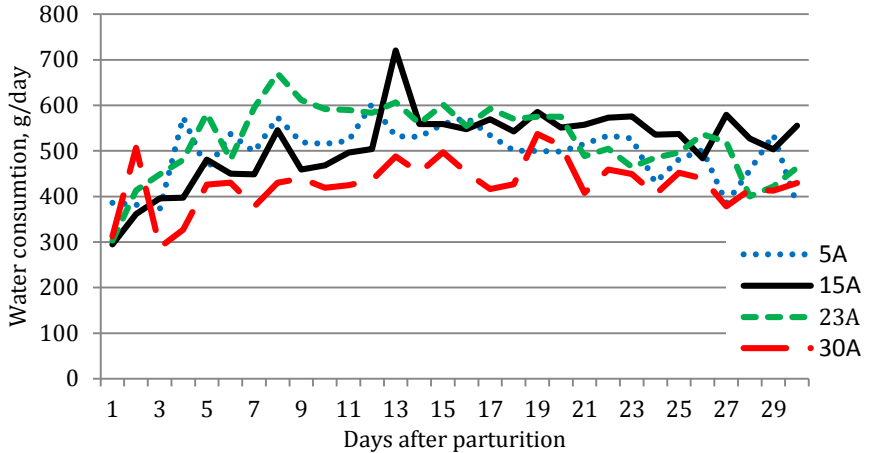


Figure 2: Effect of ambient temperature on water consumption of lactating does

The average water consumption of groups of 15/23R and 15/30R (571 and 428 g/day, respectively) was more than that of 23A and 30A does by 8.6% and 13.3%, respectively (*Figure 3*).

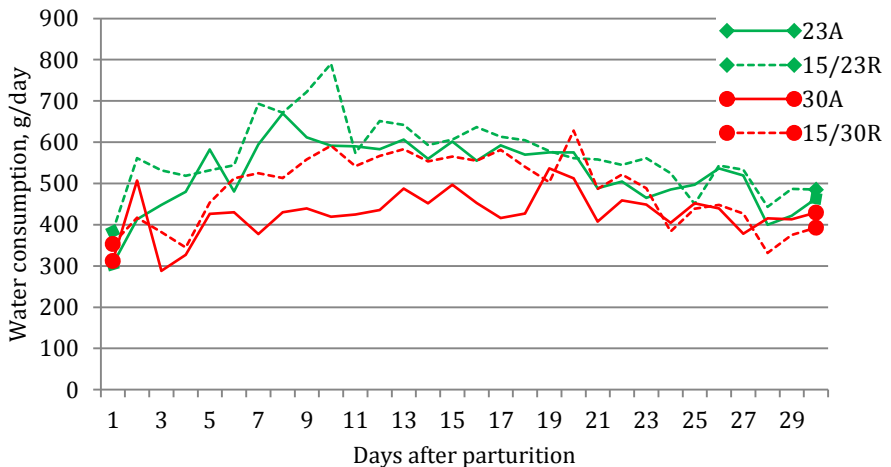


Figure 3: Effect of ambient temperature and feed restriction on water consumption of lactating does

The ratio of water per feed intake increased with increasing ambient temperature; they were 1.73, 1.84, 2.02 and 2.39 in groups of 5A, 15A, 23A and

30A, respectively. Compared to *ad libitum* groups higher values were found when does were fed restricted: between groups of 23A and 15/23R by 0.18, and between groups of 30A and 15/30R by 0.32.

Body weight of does

Few days after parturition the body weight of does increased (*Figure 4*). It was the highest in groups 5A and 15A (about 3800 g). The highest body weight of 23A does was measured at day 9 (3658 g) and it slowly declined till the end of the experiment (day 30) to 3470 g. The body weight of 30A does decreased faster and reached the lowest value at day 27 (3368 g). The average body weights of 5A, 15A, 23A and 30A does were 3793, 3785, 3571 and 3463 g, respectively. Compared to 15A group the body weight decreased by 5.7 and 8.5% in groups 23A and 30A, respectively.

Significant differences were found between groups 23A and 15/23R, and between groups 30A and 15/30R at the end of the experiment (*Figure 5*). These differences between 23A (3470 g) and 15/23R (3653 g), and between 30A (3387 g) and 15/30R (3519 g) groups were 3.9% and 3.0%, respectively, in favour of restricted does.

Milk production

The milk production curves of 5A, 15A and 23A does increased until day 20 of lactation with highest values of 201, 217 and 208 g/day, then it began to decline (*Figure 6*). Significantly lower milk production was measured in 30A group with 130 g/day at day 20. The average daily milk production of 5A, 15A and 23A does were similar (148, 152 and 150 g/day), however significantly lower production (by 29%) was observed in 30A group (106 g/day).

The average daily milk production differed between 23A and 15/23R groups (150 and 138 g, respectively), while the difference between 30A and 15/30R groups was inconsiderable (106 and 102 g, respectively), however it depended on the stage of lactation (*Figure 7*). Higher milk production was found in 23A group than in 15/23R group during the whole lactation period, however 15/30R does produced more milk in the first half of lactation than 30A does, while in the second half of lactation the order of the groups reversed, at day 30 of lactation the produced amounts of milk were 79 g and 52 g in groups of 30A and 15/30R, respectively.

Feed consumption of kits

The feed consumption of kits in groups 5A, 15A and 23A was similar (*Figure 8*) with a slight increasing tendency (12.2, 12.5 and 12.6 g, respectively), while significant lower consumption (9.93 g) was observed in 30A group.

Significant differences were found between the *ad libitum* and restricted fed groups (Figure 9): the 23A kits consumed more feed than the 15/23R group (12.6 and 10.9 g/day, respectively), while 30A kits consumed less pellet than the kits in 15/30R group (9.9 and 12.5 g/day, respectively).

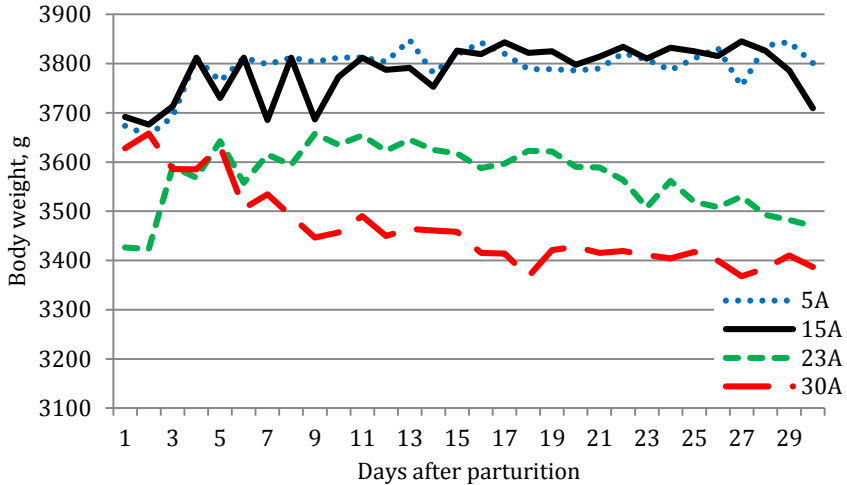


Figure 4: Effect of ambient temperature on body weight of lactating does

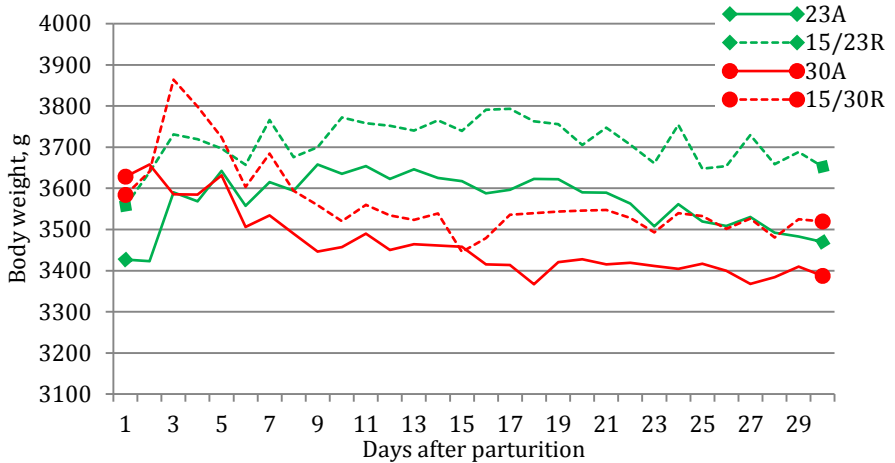


Figure 5: Effect of ambient temperature and feed restriction on body weight of lactating does

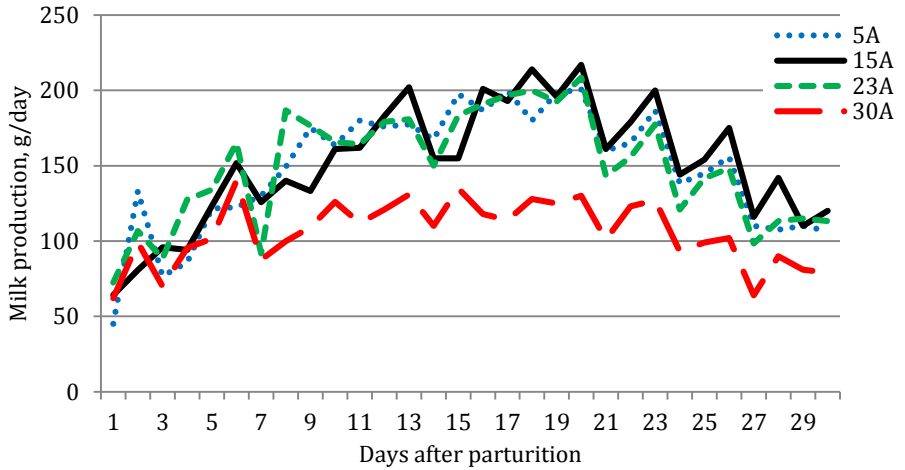


Figure 6: Effect of ambient temperature on daily milk production of does

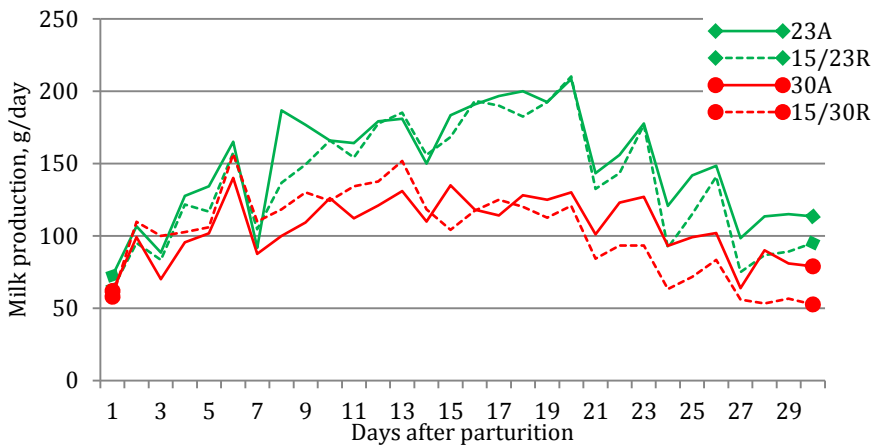


Figure 7: Effect of ambient temperature and feed restriction on daily milk production of does

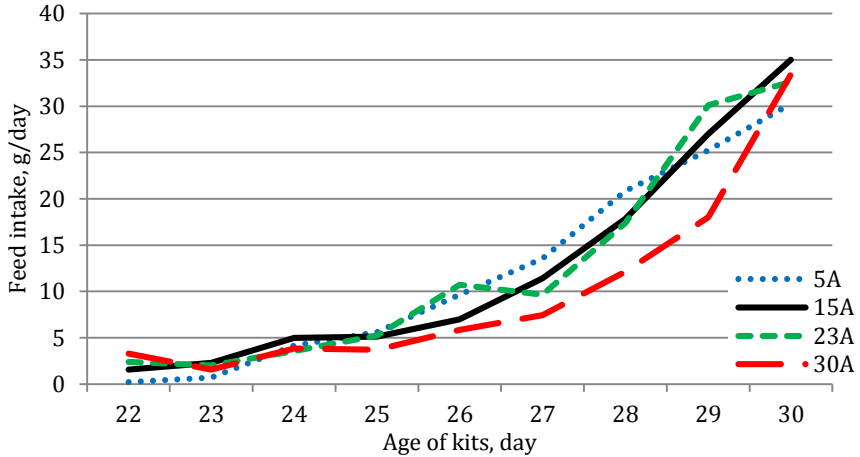


Figure 8: Effect of ambient temperature on feed consumption of kits

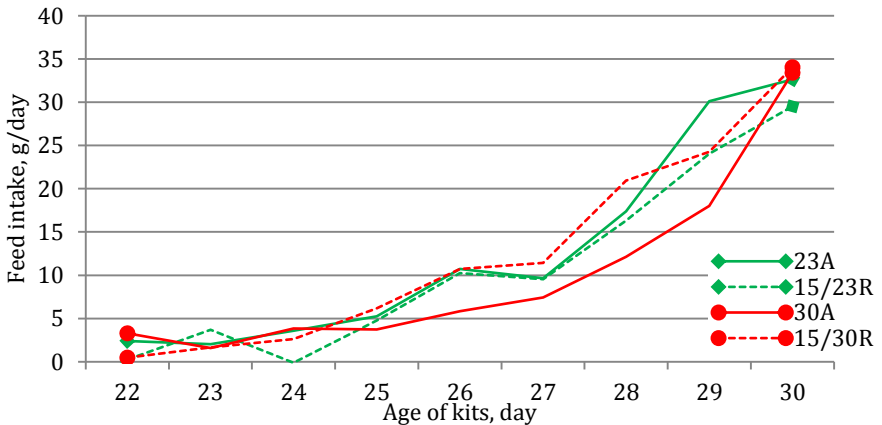


Figure 9: Effect of ambient temperature and feed restriction of rabbit does on feed consumption of kits

Water consumption of suckling rabbits

Kits in groups 5A and 15A drank similar amount of water (25.9 and 25.5 g/day, respectively). Rabbits in group 23A drank significantly higher amount of water between days 22 and 30 (36.6 g/day) (Figure 10), while in 30A group kits drank more than double amount of water (74.2 g/group) than in 23A group.

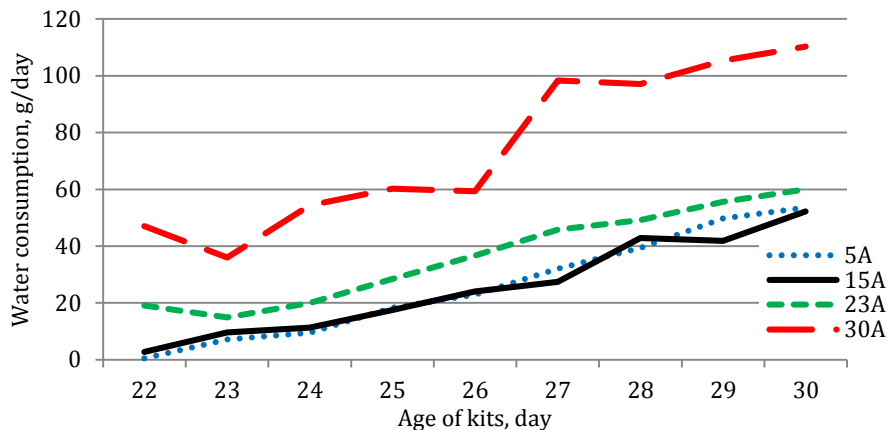


Figure 10: Effect of ambient temperature on water consumption of kits

The water consumption of restricted groups (15/23R and 15/30R) was the same (22.5 and 22.0 g/day, respectively), however it was significantly lower than that of the 23A and 30A kits (Figure 11).

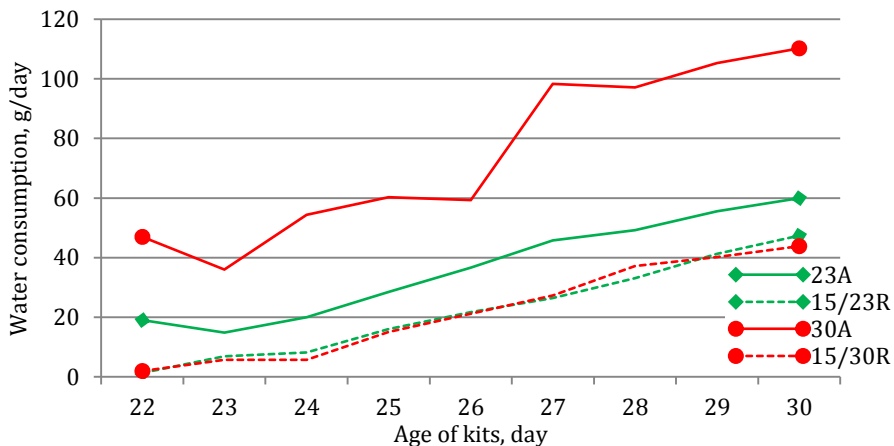


Figure 11: Effect of ambient temperature and feed restriction of rabbit does on water consumption of kits

Litter weight

Connection was observed between milk production of does and growth of litters. No significant differences were observed in litter weight till 9 days of

age. From the time, when the milk production of group 30A was lagging behind the other groups, there was also a significant difference in litter weight (Figure 12 and 13).

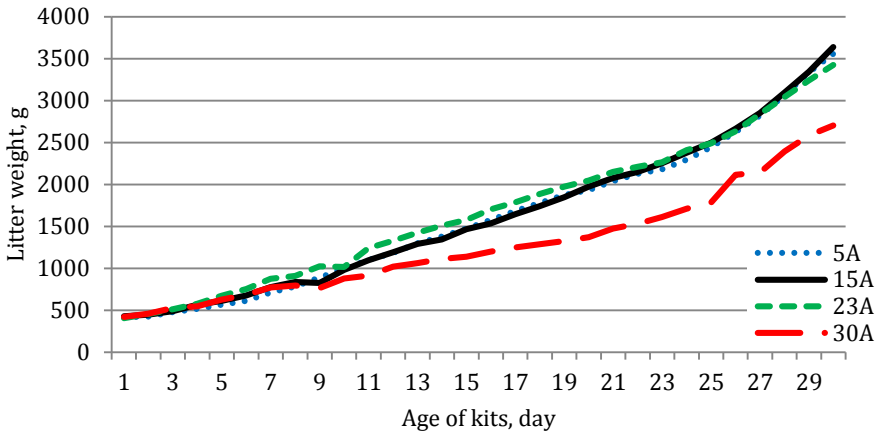


Figure 12: Effect of ambient temperature on litter weight

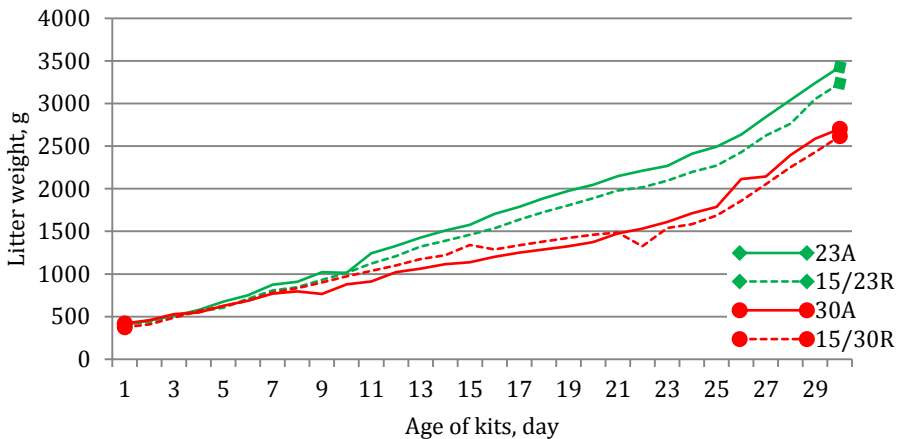


Figure 13: Effect of ambient temperature and feed restriction of rabbit does on litter weight

DISCUSSION

Heat is one of the most important climatic factors, which may affect rabbit production in hot climates (tropics or hot summer). The environment is sometimes defined by the season of the year and its effects are evaluated. In hot climate or in summer, despite the high temperature during day, it is lower in the night, when the rabbits are more active and they consume more feed. Several times controlled environments (climatic chambers) are used. However, the ambient temperature could be the same in both cases, but in climatic chamber temperature can remain high for 24 hours. This is why the effect of high temperature is more significant if climatic chamber is used than under natural conditions. In the present experiment rabbits were kept in climatic chambers without any change of temperature throughout the experiment.

Rabbits are very sensitive to high ambient temperatures since they have few functional sweat glands limiting their ability in eliminating excess body heat (*Maya-Soriano et al.*, 2015). As a homeothermic animal, they can regulate the heat input and output of their bodies using physical, morphological, biochemical, and behavioural processes (*Marai and Habeeb*, 1994).

The performance of rabbit does

Feed intake, body weight and milk production of does are in close connection with each other, therefore we evaluated them together.

Though 5 °C is lower than the optimal temperature for rabbits, it hardly affected the production of does, only slightly less water consumption was observed compared to the rabbits at 15 °C.

According to *Marai and Habeeb* (1994) and *Verga et al.* (2007) the ideal ambient temperature range should be 16-21°C for rabbit does. In case of high ambient temperature a decrease in feed intake is the most important reaction (*Marai et al.*, 2002). Based on opinion of *Mousa-Balabel* (2004), when rabbits are exposed to high ambient temperature, there is an inhibition of the hypothalamic appetite centre, hence feed intake is reduced in order to diminish body heat production. The lower performance of does kept on warm or hot climates could be also in connection with the lower digestibility of diet; the digestibility coefficients of dry matter and crude protein declined by about 8% due to the heat stress (*Marai et al.*, 2001).

In the present experiment the decreased feed intake led to a decline in body weight and milk production of does. It confirms the results of *Maertens and de Groote* (1990), who evaluated the effect of high ambient temperature during

short (1-week) period of lactation and reported 11% decrease in feed intake and 9% in milk production. In accordance to findings of other authors (e.g. *Simplicio et al.*, 1988; *Fernández-Carmona et al.*, 1995) the high ambient temperature had a negative effect on the milk production. It seems that lactating does react very sensitive to higher ambient temperatures; because in the present experiment their feed intake declined at 23 °C. However, we observed only a slight decline in milk production, but body weight of does decreased significantly. The experimental results of *Rafai and Papp* (1984) also showed that at 25°C a noticeable reduction in feed intake started, and subsequently milk yield, litter weight and doe weight were affected.

In the present experiment, the decrease in feed consumption and milk production were even more significant at 30 °C. Comparing the feed intake of lactating does in traditional building at 30 °C, similarly to our result, a 34% decline was observed by *Fernández-Carmona et al.* (1995). In the experiment of *Papp et al.* (1983) body weight of does kept on 10 °C and 15 °C increased, at 23 °C remained unchanged, but at 30 °C definitely decreased between days 6 and 29 of lactation. *Fernández-Carmona et al.* (1995) housed does at 30 °C and observed 32% lower milk yield. *Rafai and Papp* (1984) found a decrease of 7.7 g in milk yield per day with each centigrade above 20°C; and it was the highest in the 3rd week of lactation. *Bakr et al.* (2015) compared two groups of does. One group was housed in comfort condition (18-22°C) and in the other group Mediterranean summer was simulated (24°C at 08:00 h, increasing up to 29°C until 11:00 h; maintenance at 29°C to 31°C for 4 h and decreasing to about 24°C to 26°C around 17:00 h until 08:00 h of the following day). Under high ambient temperature the feed intake, body weight of does and weaning weight of kits decreased by 9.4%, 6.2% and 8%, respectively, and no significant differences were found in water intake and milk production of does, because of fluctuation of heat during the day. Daily 8-hour high heat stress (37 °C) resulted strong negative effect on milk yield (24-29%) compared to group reared in comfort condition (*Askar and El Ismail*, 2012). *Ayyat et al.* (1995) also observed lower milk yield in hot season (summer) than in winter or in spring.

The design of experiment (feed restriction of does at 15 °C for similar levels than the does consumed at temperature of 23 °C and 30 °C) gave opportunity to evaluate the effect of high ambient temperature (23 °C and 30 °C) and the lower feed intake at the same temperature without heat stress.

Comparing the differences between the average body weights of 15A and 23A groups (214 g), and between 15A and 15/23R groups (73 g) demonstrated that 34% of the weight loss at 23 °C was caused by the lower feed intake. Analyzing the difference in feed intake between 15 °C and 30 °C,

68% of the weight loss at 30 °C was caused by the lower feed intake. These results show the role of lower feed intake and the physiological factors on weight loss caused by high ambient temperature.

Due to the similarity in average milk production of the groups of 30A and 23/30 R during the whole lactation, and because the milk production was higher in 23A group than in 15/23R does at the end of lactation, it can be stated that the effect of high ambient temperature was mainly based on the lower feed intake. It seems that the change in milk production was independent of the body weight loss. Probably, rabbit does mobilized the fat and protein of body for milk production. This finding is in accordance with *Parigi-Bini et al.* (1992), *Xiccato* (1996), *Feugier* and *Fortun-Lamothe* (2006), *Xiccato* and *Trocino* (2010).

Rabbit is largely dependent on respiratory evaporation for regulation of body temperature in hot conditions. The significance of the increase of respiration is that it enables the rabbit to dissipate heat by vaporising high moisture through the respiratory air, which accounts for about 30% of the total heat dissipation (*Fayez et al.*, 1994). This is why the respiration rate increased from 69 to 190 breaths per minute when the ambient temperature raised from 18 to 33°C (*Johnson et al.*, 1957). The high water consumption in the hot period helps the animal to increase the heat loss through water respiratory vaporization (*Badr*, 2015). Rabbits need to make up for water loss. *Stephan* (1980) recorded 45% increase in water intake of growing rabbits at 38°C compared to 18°C. Similarly to our results, in the experiment of *Marai et al.* (2001), the water intake and the water/feed ratio of does significantly increased. In the present experiment the water to feed ratio increased from 1.84 to 2.39 between temperatures 15 °C and 30 °C.

Kits' performance

The effect of high ambient temperature on kits is different from the adult rabbits, because they born hairless, so their optimal ambient temperature is higher, around 38°C at birth and 30°C at 14 days of age (*Hull et al.*, 1986). This is why 23 °C could be warm for does, but at the same time it could be cold for kits. We have to take into consideration that the performance of kits is affected indirectly by the effect of heat on their mother and directly on kits.

There were not any differences in feed intake of kits and litter weight when they were reared at 5 °C or 15 °C, however it was lower than at the optimal temperature.

Solid feed intake of kits starts at about 18 to 21 days of age (*Maertens and De Groote, 1990*). The degree of increment in feed intake of kits depends on milk production of does (milk intake of kits). There were only slight differences in feed intake between groups of 5A, 15A and 23A, which showed that the effect of ambient temperature was inconsiderable till 23 °C, but marked decline was observed in group 30A. It was confirmed by the difference between the 30A and 15/30R groups, which also showed the effect of high ambient temperature on feed intake of kits. It seems that the effect of ambient temperature on kits' feed consumption was much less than on their mothers.

Growth of kits mainly depends on the milk production of does, the milk intake of kits (*Maertens et al., 2006*) and their own solid feed intake. In the present experiment the difference between 30A and the other groups started at about 10 days of lactation and it increased till kits started to consume solid feed (at about 21 days of age), which was caused by the lower milk production of 30A does. The difference remained similar till weaning, which showed that the lower feed intake of kits was mainly related to the smaller weight, the lower requirement of maintenance. *Ayyat et al. (1995)* described that parallel with milk yield the litter weight was also low in summer. Due to the heat stress, lower litter weight at weaning was observed by *Marai et al. (2001)*. *Marco-Jiménez et al. (2017)* received 14% difference in individual body weight of kits at 30 days of age between temperatures of 14-20°C and 25-36°C. *Piles et al. (2013)* proved that the individual weaning weight decreased by 14 g per each centigrade when temperature was higher than 21°C.

Results show that the water intake of kits depends more on ambient temperature than that on feed intake. The kits in 23A group drank more water than the 15A kits, but 30A kits drank double amount of water than 23A kits. The same result was shown by the ratios of water/feed consumption, which were a little bit higher than 2 in groups 5A and 15A, but it was significantly higher in 23A kits (2.90) and it was much higher in A30 group (7.48). According to these results the water intake could be independent of the mother, it depends on the ambient temperature, and the respiration rate of kits could be high at higher ambient temperature to lose the extra heat.

CONCLUSIONS

Based on the results it can be stated that:

- housing of rabbit does and their kits at 5 °C hardly modify their production compared to the optimal (15 °C) ambient temperature;
- rearing rabbit does at 23 °C, their feed intake decrease non-significantly 10 days after parturition compared to rabbits 5 and at 15 °C. However, there

is a significant decrease in body weight, while the milk production is not affected;

- at 30 °C the heat stress is very high, rabbit does consume much less pellet, their weight and milk production is much more less than that of rabbits at 5, 15 and 23 °C; 68% of the weight loss was based on the lower feed intake, in case of milk production mainly the lower feed intake was responsible for the low milking level;

- in kits the main effect of high ambient temperature was the high water intake and because of the lower milk and feed intake their weight decreased significantly.

ACKNOWLEDGEMENTS

Writing the paper was supported by project of GINOP-2.3.4-15-2016-00005, and it was also supported by the EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008 project. The project is co-financed by the European Union and the European Social Fund.

REFERENCES

- Askar A.A., Ismail I.El. 2012. Impact of heat stress exposure on some reproductive and physiological traits of rabbit does. *Egypt. J. Anim. Prod.*, 49, 151-159.
- Ayyat M.S., Marai I.F.M., El-Sayiad Gh.A. 1995. Genetic and non-genetic factors affecting milk production and preweaning litter traits of New Zealand White does under Egyptian conditions. *World Rabbit Sci.*, 3, 119-124. DOI: [10.4995/wrs.1995.250](https://doi.org/10.4995/wrs.1995.250)
- Badr M.M.A. 2015. Effect of feeding time and vitamin C levels on performance of rabbit does during the mild and hot seasons in Egypt. *Nat. Sci.*, 13, 25-30.
- Bakr H.M., Tusell L., Rafel O., Terré M., Sánchez P.J., Piles M. 2015. Lactating performance, water and feed consumption of rabbit does reared under a Mediterranean summer circadian cycle of temperature v. comfort temperature conditions. *Animal*, 9, 1203–1209. DOI: [10.1017/s1751731114003310](https://doi.org/10.1017/s1751731114003310)
- Boiti C., Chiericato G.M., Filotto U., Canali C., 1992. Effects of high environmental temperature on plasma testosterone, cortisol, T3 and T4 levels in the growing rabbit. *J. Appl. Rabbit Res.*, 15, 447-455.
- Chiericato M.G., Rizzi C., Boiti C., Canali C., Rostellato V. 1997. Endocrine response of hybrid rabbits of different ages and under two environmental temperature conditions. *Tropicultura*, 15, 22-26.
- Fayez I., Marai M., Alnaimy A., Habeeb M. 1994. Thermoregulation in rabbits. *Cahiers Options Méditerranéennes*; n. 8, 33-41.
- Fernández-Carmona J., Cervera C., Sabater C., Blas E. 1995. Effect of diet composition on the production of rabbit breeding does housed in a traditional building and at 30°C. *Anim. Feed Sci. Techn.*, 52, 289-297. DOI: [10.1016/0377-8401\(94\)00715-1](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)00715-1)
- Fernández-Carmona J., Santiago S., Alqedra I., Cervera C., Pascual J.J., 2000. Effect of lucerne-based diets on the reproductive performance of rabbit does at high environmental temperatures. In *Proc.: 7th World Rabbit Congress*, Valencia, Spain, C, 203-208.
- Feugier A., Fortun-Lamothe L. 2006. Extensive reproductive rhythm and early weaning improve body condition and fertility of rabbit does. *Anim. Res.*, 55, 459-470. DOI: [10.1051/animres:2006025](https://doi.org/10.1051/animres:2006025)
- Gill M., Smith P., Wilkinson M.J. 2010. Mitigating climate change: the role of domestic livestock. *Animal*, 4, 323–333. DOI: [10.1017/s1751731109004662](https://doi.org/10.1017/s1751731109004662)

- Hull D., Hull J., Vinter J. 1986. The preferred environmental temperature of newborn rabbits. *Biol. Neonate*, 50, 323-330. DOI: [10.1159/000242616](https://doi.org/10.1159/000242616)
- Johnson H.D., Ragasdale A.C., Eheng C.S. 1957. Influence of constant environmental temperatures on growth responses and physiological reactions of rabbits and cattle. *Mo. Agric. Exp. Sta. Res. Bull.*, No. 648.
- Kalaba M.Z. 2012. Physiological response and stress indicators of California rabbits under intensive condition in Egypt. *Asian J. Poultry Sci.*, 6, 65-78. DOI: [10.3923/ajpsaj.2012.65.78](https://doi.org/10.3923/ajpsaj.2012.65.78)
- Lebas F. 1975. Le lapin de chair, ses besoins nutritionnels et son alimentation pratique. ITAVI, Paris, 50 p.
- Maertens L., de Groot G. 1990. Comparison of feed intake and milk yield of does under normal and high ambient temperature. *J. Appl. Rabbit Res.*, 13, 159-162.
- Maertens L., Lebas F., Szendrő Zs. 2006. Rabbit milk: A review of quantity, quality and non-dietary affecting factors. *World Rabbit Sci.*, 14, 205-230. DOI: [10.4995/wrs.2006.565](https://doi.org/10.4995/wrs.2006.565)
- Marai I.F.M., Habeeb A.A.M. 1994. Thermoregulation in rabbits. *Options Méditerranéennes*, 8, 33-41.
- Marai M.F.I., Ayyat M.S., Abd El-Monem M.U. 2001. Growth performance and reproductive traits at first parity of New Zealand White female rabbit as affected by heat stress and its alleviation under Egyptian Conditions. *Tropical Anim. Health Prod.*, 33, 451-462.
- Marai M.F.I., Habeeb H.A.A., Gad E.A. 2002. Rabbits' productive, reproductive and physiological performance traits as affected by heat stress: a review. *Livest. Prod. Sci.*, 78, 71-90. DOI: [10.1016/s0301-6226\(02\)00091-x](https://doi.org/10.1016/s0301-6226(02)00091-x)
- Marco-Jiménez F., García-Diego F.J., Vicente J.S. 2017. Effect of gestational and lactational exposure to heat stress on performance in rabbits. *World Rabbit Sci.*, 25, 17-25. DOI: [10.4995/wrs.2017.5728](https://doi.org/10.4995/wrs.2017.5728)
- Maya-Soriano M.J., Taberner E., Sabes-Alsina M., Ramon J., Rafel O., Tusell L., Piles M., Lopez-Bejar M. 2015. Daily exposure to summer temperatures affects the motile subpopulation structure of epididymal sperm cells but not male fertility in an in vivo rabbit model. *Theriogenology*, 84, 384-389. DOI: [10.1016/j.theriogenology.2015.03.033](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.03.033)
- Mousa-Balabel M.T. 2004. Effect of heat stress on New Zealand White rabbits' behaviour and performance. *Minufiya Vet. J.*, 3, 125-134.
- Papp Z., Kovács F., Rafai P. 1983. Impact of the climatic environment on large-scale rabbit farm. II. Effect of environmental temperature on the milk production of does and on the trend of losses throughout the suckling age. *MÁL*, 38. 2. 115-120.
- Parigi-Bini R., Xiccato G., Cinetio M., Dalle Zotte A., 1992. Energy and protein utilization and partition in rabbit does concurrently pregnant and lactating. *Anim. Prod.*, 55, 153-162. DOI: [10.1017/s0003356100037387](https://doi.org/10.1017/s0003356100037387)
- Piles M., Tusell L., Rafel O., Ramon J., Sánchez P.J. 2013. Effect of heat intensity and persistency on prolificacy and preweaning kit growth at different stages of the rabbit production cycle. *J. Anim. Sci.*, 91, 633-643. DOI: [10.2527/jas.2012-5455](https://doi.org/10.2527/jas.2012-5455)
- Rafai P., Papp Z. 1984. Temperature requirement of does for optimal performance. *Arch. Exper. Vet. Med., Leipzig*, 38, 450-457.
- Simplicio J.B., Fernandez C. J., Cervera C. 1988. The effect of a high ambient temperature on the reproductive response of the commercial doe rabbit. *Proc. 4th World Rabbit Congress, Budapest, Hungary*, Vol. 3, 36-41.
- Stephan E. 1980. The influence of environmental temperatures on meat rabbits of different breeds. *Commercial Rabbit*, 8, 12-15.
- Szendrő Zs., Papp Z., Kustos K. 1999. Effect of environmental temperature and restricted feeding on production of rabbit does. 2. International Conference on Rabbit Production in Hot Climates, Adana, Turkey, 11-17.
- Takahashi M. 2012. Heat stress on reproductive function and fertility in mammals. *Reprod. Med. Biol.*, 11, 37-47. DOI: [10.1007/s12522-011-0105-6](https://doi.org/10.1007/s12522-011-0105-6)

- Verga M., Luzi F., Carenzi C., 2007. Effects of husbandry and management systems on physiology and behaviour of farmed and laboratory rabbits. *Horm. Behav.*, 52, 122-129. DOI: [10.1016/j.yhbeh.2007.03.024](https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2007.03.024)
- Xiccato G., 1996. Nutrition of lactating does. In: 6th World Rabbit Congress, Toulouse, France, 1, 29-47.
- Xiccato G., Trocino A. 2010. Energy and protein metabolism and requirements. In: De Blas C., Wiseman J. (Eds), *The Nutrition of the Rabbit*, CABI Publishing, CAB International, Wallingford, UK, Cambridge, USA, 83-118.
- Zeferino P.C., Moura T.M.A.S.A., Fernandes S., Kanayama S.J., Scapinello C., Sartori R.J. 2011. Genetic group×ambient temperature interaction effects on physiological responses and growth performance of rabbits. *Livest. Sci.*, 140, 177-183. DOI: [10.1016/j.livsci.2011.03.027](https://doi.org/10.1016/j.livsci.2011.03.027)



Replacing fish meal with alternative protein sources in common carp's feed

Abidemi Adekoya, Maridell Porcadilla, Dániel Varga*, Balázs Kucska

Kaposvár University, Faculty of Agricultural and Environmental Sciences,
H-7400 Kaposvár, Guba S. u. 40.

ABSTRACT - The objective of this study was to investigate the effect of PL68 and soybean meal as alternative protein sources in the diet of common carp (*Cyprinus carpio* L.). The experiment lasted for four weeks. There was a significant difference ($p < 0.05$) in the final weight and HSI between treatments. There were no significant differences for feed conversion ratio, specific growth rate, condition factor, and fillet weight between groups. The flesh color parameters, pH values and water losses (dripping loss, thawing loss, and cooking loss) did not show any significant differences between the three dietary treatments. In conclusion the result of this study showed that PL68 and soybean meal can partially replace fishmeal in common carp's diet without any adverse effect on growth but further research is needed to evaluate the effect of different inclusion levels of PL68.

Keywords: fish meal replacement, soybean, PL68, common carp

INTRODUCTION

Aquaculture is the fastest growing sector of the world's food trade, increasing by more than 10% per year. Fish flesh is highly nutritive and is a rich source of animal proteins. For the improvement of fisheries and to achieve maximum yields from resources of fresh water, it is necessary to provide artificial feed, by which fish grow rapidly and attains maximum weight with shortest possible time (Kushwaha, 2013). Aquaculture production is growing up to satisfy the increasing demand of fish for human consumption (Magalhães et al., 2015) and generally, the feed cost in aquaculture accounts to 40-60% of total production cost within which the crude protein source being the highest (Cheng et al., 2003). In fish, however, protein is the most important nutrient, fish meal is an adequate and expensive protein source for fish diet and supplementing with other proper protein source would help to reduce total production cost, although supplementing is dependent e.g. on lysine content. Thus, the search for fish meal substitutes and alternative dietary protein sources is an international research priority (Yuan et al., 2010).

Plant proteins has been alternative protein source for fish feed, however, some factors limit the use of plant protein such as its low protein content, high

*CORRESPONDING AUTHOR

Kaposvár University, Faculty of Agricultural and Environmental Sciences

✉ H-7400 Kaposvár, Guba S. str. 40., ☎ +36-82-505-800

E-mail: varga.daniel@ke.hu

fiber content, an amino acid imbalance, poor palatability and the presence of anti-nutritional factors (Tibbetts et al., 2006).

Recently some studies were focused on the alternative (vegetable) protein sources in fish feeds. The most important protein sources were bean (Bosnyákné et al. 2018) DDGS (Révész 2016) and soybean Yusuf et al 2016; Solomon et al. 2017).

The aim of the study was to determine the influence of different protein sources (fish meal, PL68, soybean meal) on growth performance and meat quality of common carp (*Cyprinus carpio*).

MATERIAL AND METHODS

The trial was carried out at the Aquaculture Department of Kaposvár University. Three iso-nitrogenous and iso-caloric diets were formulated using different protein sources: A - fish meal, B - PL68 (a dried, killed, non-GMO bacterial biomass by-product of the monosodium L-glutamic acid production), C - soybean meal). The compositions of the diets are shown in Table 1.

Table 1

Composition of Experimental Diets (% Dry Matter)

Ingredients	Experimental Diets		
	Diet A	Diet B	Diet C
Fish meal	33.00	18.01	23.38
Wheat flour	63.10	64.06	53.13
Soybean meal	-	-	19.13
PL68	-	14.01	-
Fish oil	2.80	2.80	3.19
Vitamin and Mineral premix	0.10	0.10	0.11

Common carp (143.54 ± 23.57 g) were randomly chosen from a bulk which had been fed on a commercial diet for 10 weeks prior to the experiment. The fish were distributed to 9 small tanks (6 individuals/tank). Re-circulated water flowed in each tank and oxygen was also supplied continuously. Water temperature was constantly monitored at 24-26°C while oxygen was at 6 - 7.2 mg/l. Fish were fed twice daily until satiation. The experimental period was 4 weeks.

Body weights and lengths were recorded during the trial. Feed intake was measured and recorded every day for 4 weeks period. Two fish per tank were randomly selected for slaughter at the end of the trial. The chosen fish were slaughtered by a blow to the head. Specific growth rate (SGR), feed conversion ratio, slaughter value, condition factor (CF), viscerasomatic index (VSI), and

hepatosomatic index (HSI) were determined. Body weights were measured and filleted for the meat quality determination. Flesh quality investigations were carried out according to Varga et al (2013).

One-way ANOVA (followed by Tukey Post Hoc test) was used to analyze the effect of different diets on r growth and feed utilization, slaughter value and meat quality parameters of common carp (SPSS for Windows 14.0).

RESULTS AND DISCUSSION

The results of growth performance are presented in *Table 2*. There was no significant difference between the groups in the feed consumption.

There was significant difference in final weight (*Table 2*), fish fed with diet C had higher weight than diet B, and this might be as a result of high feed consumption of diet C. Also, soybean meal serves as a good protein source for herbivorous fish. *Bhilave et al.*, (2010) reported that the inclusion of 100% soybean meal in the diet of grass carp (*Ctenopharingodon idella*) had highest body weight compared to 100% groundnut cake meal, but the growth was attributed to the higher protein content of the soybean meal.

Table 2

Growth parameters and somatic indices of the carp fed different feeds

	Diet A	Diet B	Diet C	P
Feed Intake (g)	646.67±114.16	555±49.52	693.67±84.85	NS
Total Initial Weight	892±10.15	863.33±11.02	895±22.52	NS
Total Final Weight	1143.3±60.08ab	1060±46.77b	1194.67±7.77a	<0.05
FCR	2.58±0.08	2.89±0.41	2.33±0.34	NS
SGR	0.88±0.15	0.73±0.16	1.03±0.11	NS
CF	3.44±0.06	3.32±0.11	3.30±0.08	NS

The FCR values showed no significant differences between treatments but can be considered to be high in general. Our results are similar to the FCR recorded by *Bhilave et al.*, (2010) for grass carp (*Ctenopharengedon idella*) diets containing 50% soybean.

There was no significant treatment effect in SGR in this experiment (*Table 2*). A similar result was observed in a study where common carp was fed with fish meal diet and had a significant higher weight compared to common carp fed with sunflower meal, but the difference was not significant (*Ali et al.*, 2016). The lack of treatment effect observed in this study might be due to the short experimental period and small number of fish used in this experiment, and with a longer feeding trial and with a larger number of fish more reliable conclusions could be drawn (*Khan et. al.*, 2003).

Condition factor (CF) is the basis for the good health condition of the fish (Ighwella et. al, 2014). There was no significant difference for the condition factor in this experiment. Values of 3.44 ± 0.06 , 3.32 ± 0.11 and 3.30 ± 0.08 were calculated for fish fed diets A, B and C, respectively, which shows they were in good condition throughout the experimental period. The result in this experiment is similar to the results of a study using fishmeal and earthworm as a protein source in the diet of common carp with condition factor ranging from 3.19 ± 0.05 to 3.22 ± 0.13 (Ngoc et.al, 2016).

Results of flesh quality investigations are shown in *Table 3*. There were no significant effects of diets on the measured parameters.

The ability of the fish meat to retain water was tested on different methods post mortem 24 h and after 1 week of freezing; dripping, thawing and cooking loss were measured. Fish fed control diet (Diet A) exhibited the least loss of water during cooking followed by Diet C and B. The trend is the same for the dripping loss *post mortem* 24 hours and thawing after a week. The three different dietary diets exhibited almost similar losses, without significant differences. The same result with no significant difference were found between treatments for the pH values of the meat *post mortem* 24 hours.

Table 3

Fillet quality parameters of the carp fed different feeds

	Dietary Treatment (mean ± SD)		
	Diet A	Diet B	Diet C
Fillet yield (%)	38.05 ± 2.12	38.01 ± 2.41	39.99 ± 4.18
L*	41.11 ± 2.02	40.35 ± 2.03	39.97 ± 1.77
a*	26.45 ± 1.71	25.45 ± 1.40	25.47 ± 1.50
b*	21.53 ± 1.40	20.75 ± 1.36	20.73 ± 1.28
Cooking loss (%)	17.02 ± 1.19	18.49 ± 1.86	18.21 ± 2.25
Dripping loss (%)	5.84 ± 1.46	6.16 ± 0.98	5.84 ± 1.37
Thawing loss (%)	7.75 ± 1.49	8.75 ± 2.27	8.09 ± 2.19
pH	6.37 ± 0.13	6.37 ± 0.18	6.47 ± 0.25

Color is one of the most important indicators of flesh quality. No significant differences were observed in the fillet lightness, redness and yellowness. The three protein sources tested in this study did not differ in flesh color quality of common carp. Thus, supplemental replacement of fishmeal with PL68 and soybean ingredients is possible, since flesh color was almost similar to the fish meal fed fish. Another type of bacterial protein that replaced the dietary fish

meal showed positive effects on the sensory quality of chicken meat after frozen storage due to effects on fatty acid composition but had minimal effects when replaced to soybean meal (Schøyen *et al.*, 2007).

Flesh pH is correlated to the fish texture. Several species show lower fish fillet quality when pH decreases (Rahmanifarrah, *et al.*, 2011). The decrease on the denaturation of the sarcoplasmic proteins reduces the water holding capacity of the meat (Periago *et al.*, 2005). In this experiment, the means of pH for all the dietary treatments *post mortem* 24 hours were lower than the previously observed on carp (*Cyprinus carpio*) and other species like European sea bass (*Dicentrarchus labrax*), goldfish (*Carassius auratus*) and several salmonid species which pH ranged from 7.0 to 7.63 (Wilkinson, *et al.*, 2008). Several factors may influence the lower pH detected on the flesh of the common carp in this study such as the time lag on filleting the fish, and the decomposition of glycogen which increases the lactic acid during or immediately after slaughter (Rahmanifarrah *et al.*, 2011). However, the pH observed in this study remained stable with different dietary treatments and was in line with the experiment conducted by Varga *et al.*, (2013).

CONCLUSIONS

In this study we show that the, PL68 and soybean meal are effective alternative for partial replacement to fish meal as long as it meets the minimum protein requirements to attain a consumer preferred flesh meat quality, although PL68 was not comparable to soybean meal in terms of growth. The meat quality of the fish fed on three different diets is comparable to each other, thus it can be recommended that PL68 and soybean with inclusion levels of approximately 14% and 19% respectively can be used to replace fish meal in the diet and still attain same flesh quality as the fish fed with 100% fish meal.

Due to short period of time of experiments of this study, the significant effects of the different dietary protein ingredients on flesh quality and growth performance were not fully observed, thus it is recommended that a further study should be done to observe the effect of different inclusion rates on growth performance, ensuring the optimal period of feeding in order to show the best result for flesh quality of common carp.

ACKNOWLEDGEMENTS

The study was supported by the project GINOP-2.3.4-15-2016-00005.

REFERENCES

- Ali, T., Martinez, S., Monino, A., Tomas-Vidal, A. (2016): Effects of weekly feeding frequency and previous ration restriction on the compensatory growth and body composition of Nile tilapia fingerlings. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 42: 357–363. DOI: [10.1016/j.ejar.2016.06.004](https://doi.org/10.1016/j.ejar.2016.06.004)
- Bhilave, M.P., Bhosale, S. V., Nadaf, S.B. 2010. Growth response and feed conversion ratio of *Ctenopoma rengedon idella* fed on soyabean formulated feed. *Biological Forum*, 2(1): 67–69.
- Bosnyákné Egri H., Keszthelyi S., Varga D., Kucska, B. (2018): Bab felhasználása a pontytakarmányozásban (előzetes eredmények). *Acta Agraria Kaposvariensis* 22: 1-8. DOI: [10.31914/aak.2256](https://doi.org/10.31914/aak.2256)
- Cheng, Z.J., Hardy, R.W., Usry, J.L. (2003): Effects of lysine supplementation in plant protein-based diets on the performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and apparent digestibility coefficients of nutrients. *Aquaculture*, 215: 255–265. DOI: [10.1016/s0044-8486\(02\)00166-7](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(02)00166-7)
- Ighwela, K. A., Ahmad, A. Bin, & Abol-Munafi, A. B. (2014): The selection of viscerosomatic and hepatosomatic indices for the measurement and analysis of *Oreochromis niloticus* condition fed with varying dietary maltose levels. *International Journal of Fauna and Biological Studies IJFBS*, 1(13): 18–20.
- Jobling, M. (1983). Growth studies with fish-overcoming the problems of size variation. *J. Fish Biol*, 22: 153–157. DOI: [10.1111/j.1095-8649.1983.tb04735.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1983.tb04735.x)
- Khan, M., Parveen, M., Rab, A., Afzal, M., Sahar, L., Ali, M., Naqvi, S. (2003). Effect of replacement of fish meal by soybean and sunflower meal in the diet of (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 6(6): 601–604. DOI: [10.3923/pjbs.2003.601.604](https://doi.org/10.3923/pjbs.2003.601.604)
- Kushwaha, M.P. (2013): Replacement of fish meal by soybean (*Glycine max*) in the formulation of fish feed ingredients essential for immunostimulation and growth performance of carps. *International Journal of Fauna and Biological Studies*, 1(2): 35–38.
- Magalhães, R., Coutinho, F., Pousao-Ferreira, P., Aires, T., Oliva-Teles, A., Peres, H. (2015): Corn distiller's dried grains with solubles: Apparent digestibility and digestive enzymes activities in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) and meagre (*Argyrosomus regius*). *Aquaculture*, 443: 90–97. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2015.03.016](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.03.016)
- Ngoc, T.N., Pucher, J., Becker, K., Focken, U. (2015): Earthworm powder as an alternative protein source in diets for common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture Research*, 47(9): 2917–2927. DOI: [10.1111/are.12743](https://doi.org/10.1111/are.12743)
- Rahmanifarah, K., Shabanpour, B., Sattari, A. (2011): Effects of clove oil on Behavior and Flesh quality of common carp (*Cyprinus carpio* L.) in comparison with Pre-slaughter CO2 stunning, chilling and asphyxia. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11(1): 141–150.
- Révész N., Shivendra K., Bogevik, A.S., Shahi, N., Fazekas Gy., Jeney Zs., Jakabné Sándor Zs. (2016): A DDGS emészthetőségének vizsgálata ponty ivadékok két különböző hőmérsékleten történt takarmányozása során. *XL. Halászati Tudományos Tanácskozás*, p. 11
- Schøyen, H., Svihus, B., Storebakken, T., Skrede, A. (2007): Bacterial protein meal produced on natural gas replacing soybean meal or fish meal in broiler chicken diets. *Archives of Animal Nutrition*, 61(4): 271-279. DOI: [10.1080/17450390701431953](https://doi.org/10.1080/17450390701431953)
- Solomon S.G., Okomoda V.T., Ogucho O. (2017): Nutritional value of raw *Canavalia ensiformis* and its utilization as partial replacement for soybean meal in the diet of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) fingerlings. *Food Science & Nutrition*, 6(1): 207-213. DOI: [10.1002/fsn3.548](https://doi.org/10.1002/fsn3.548)
- Tibbetts, S.M., Milley, J.E., Lall, S.P. (2006): Apparent protein and energy digestibility of common and alternative feed ingredients by Atlantic cod, *Gadus morhua* (Linnaeus 1758). *Aquaculture*, 261: 1314–1327. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2006.08.052](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.08.052)
- Varga, D., Hancz, C., Horn, P., Molnár, T., & Szabó, A. (2013): Environmental factors influencing the slaughter value and flesh quality of the common carp in four typical fish farms in Hungary. *Acta Alimentaria*, 42(4): 495–503. DOI: [10.1556/aalim.42.2013.4.4](https://doi.org/10.1556/aalim.42.2013.4.4)

- Wilkinson, R. J., Paton, N., & Porter, M. J. R. (2008). The effects of pre-harvest stress and harvest method on the stress response, rigor onset, muscle pH and drip loss in barramundi (*Lates calcarifer*). *Aquaculture*, 282: 26–32. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2008.05.032](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.05.032)
- Yuan, Y., Gong, S., Yang, H., Lin, Y., Yu, D., Luo, Z. (2010): Apparent digestibility of selected feed ingredients for Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. *Aquaculture*, 306: 238–243. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2010.05.017](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.05.017)
- Yusuf, A, Umar, R., Micah, D.A., Akpotu, J.A. (2016): Growth response and feed utilization of *Clarias gariepinus* juvenile fed graded levels of boiled *Senna obtusifolia* seeds l. seed meal as a replacement for soybean meal. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research* 3: 345-352. DOI: [10.5455/javar.2016.c171](https://doi.org/10.5455/javar.2016.c171)



Tebukonazol hatóanyag-tartalmú gombaölő szer és ólom-acetát együttes hatásának teratológiai vizsgálata házi-tyúk embriókban

Szemerédy Géza^{1*}, Kormos Éva¹, Somody Gergő¹, Buda István¹, Szabó Rita¹, Lehel József², Budai Péter¹

¹Pannon Egyetem, Georgikon Kar, Növényvédelmi Intézet, 8360 Keszthely, Deák F. u. 16.;

²Állatorvostudományi Egyetem, Élelmiszer-higiéniai Tanszék, 1078 Budapest, István u. 2.

ABSTRACT - Teratogenicity test of individual and combined toxic effects of tebuconazole fungicide and lead-acetate on chicken embryos

Author(s): Géza Szemerédy¹, Éva Kormos¹, Gergő Somody¹, Rita Szabó¹, József Lehel², Péter Budai¹

Affiliation(s): ¹University of Pannonia, Georgikon Faculty, Institute of Plant Protection, H-8360 Keszthely Deák F. str. 16. Hungary; ²University of Veterinary Medicine, Department of Food Hygiene, H-1078 Budapest, István str. 2.

The aim of this study was to determine the individual and combined toxic effects of MYSTIC 250 EC fungicide (tebuconazole 250 g/l) and lead acetate on the development of chicken embryos. The chicken eggs were dipped in the solution or emulsion of the test materials for 30 minutes on the first day of incubation (day 0). The applied concentrations of lead acetate were 0.01% and of fungicide MYSTIC 250 EC was 0.1% corresponding to plant protection practice. The chicken embryos were examined on day 19 by the followings: rate of embryo mortality, body weight, type of developmental anomalies by macroscopic examination. The body weight was evaluated statistically by the one-way ANOVA with Tukey Dunnett post-test, the embryo mortality and the developmental anomalies were analyzed by Fisher test. Our teratogenicity study revealed that the combined administration of lead acetate and tebuconazole containing fungicide formulation (MYSTIC 250 EC) caused a significant reduction in body weight of embryos and increased the rate of embryonic mortality in both of applied group. The joint toxic effect of lead acetate and MYSTIC 250 EC is an additive effect compared to the individual toxicity of the test materials.

Keywords: tebuconazole, lead acetate, interaction, embryotoxicity, teratology

ÖSSZEFOGLALÁS

Vizsgálatunk arra irányult, hogy a növényvédelemben széles körben alkalmazott tebukonazol hatóanyagú MYSTIC 250 EC gombaölő szer és egy környezet-szennyező nehézfém, az ólom-acetát egyedi és együttes méreghatását tanulmányozzuk házi-tyúk-embriókban. A toxikológiai vizsgálat során kísérleti anyagként 0,01%-os ólom-acetát oldatot, valamint a MYSTIC 250 EC (250 g/l tebukonazol) 0,1%-os, a forgalmazó által ajánlott emulzióját alkalmaztuk. A bemerítéses kezelést a keltetés megkezdése előtt, míg a tojások feldolgozását

*CORRESPONDING AUTHOR

Pannon Egyetem, Georgikon Kar, Növényvédelmi Intézet

✉ 8360 Keszthely, Deák F. u. 16., ☎ +36-83-545-226, Fax: 36-83-545-212

E-mail: tijsvanvervest@gmail.com

a várható kelés előtt 2 nappal, a keltetés 19. napján végeztük el. A kórbonctani vizsgálat során lemértük az embriók testtömegét, feljegyeztük az elhalások számát, továbbá rögzítettük a makroszkópos fejlődési rendellenességeket. Statisztikai értékelésnél az élő embriók testtömegeinek összehasonlításához egytényezős varianciaanalízist (One-way ANOVA), az elhalások és a fejlődési rendellenességek számának elemzéséhez Fischer-féle egzakt tesztet alkalmaztunk. A vizsgálati anyagokkal elvégzett egyedi és együttes kezelések eredményeként a kezelt csoportokban az embriók testtömeg értékei szignifikánsan kisebbek voltak a kontroll csoporthoz viszonyítva. Az egyedi és együttes kezelések következtében jelentkező embrióletalitás - a fungiciddel egyedileg kezelt csoport kivételével - szignifikánsan emelkedett a kontroll csoporthoz képest. A fejlődési rendellenességek sporadikusan fordultak elő a kezelt csoportokban, teratogén hatás nem volt igazolható. Kísérletünkben felhasznált 0,01%-os ólom-acetát oldat és MYSTIC 250 EC fungicid 0,1%-os emulziójának egyedi méreghatása toxikus volt a tojásban fejlődő házityúk-embriókra nézve. A kísérleti anyagok együttes alkalmazása során az embriótoxikus dózisu ólom-acetát mellett a növényvédelmi gyakorlatban felhasznált MYSTIC 250 EC gombaölő szeres kezelés fokozta az embriótoxicitást, a toxikus interakció additív jellegű volt.

(*Kulcsszavak:* tebukonazol, ólom-acetát, interakció, embriótoxicitás, teratológia)

BEVEZETÉS

Folyamatosan fejlődő világunk egyik legnagyobb problémája a növekvő népesség számára megfelelő mennyiségű és minőségű élelmiszer előállítása. A XX. században megkezdődött az agrárium kemizálása, melynek következtében egyre nagyobb mértékben használták a piacra berobbant, veszélytelennek hitt növényvédő szereket. A mezőgazdasági termelésen belül a kémiai növényvédelem tekinthető az egyik leginkább környezetszennyező területnek. A vegyszeres növényvédelmi munkák során felhasznált növényvédő szerek elsősorban a kijuttatás területén, de onnan távolabbra elsodródva a nem célszervezeteken is kifejthetik hatásaikat, amelynek következtében a keltetés időszakában a vadon élő madarak tojásaira kerülő permetléből bejutó hatóanyag megzavarhatja az embriók fejlődését (Fejes, 2005). A tojásba bejutó testidegen kémiai anyag mennyiségét döntően befolyásolhatja a tojások meszes héjának átteresztő-képessége. Ugyanakkor, nagymértékben függ a tojáshéj-képződéskor jelenlévő környezeti tényezőktől is, amelynek következtében az ugyanazon egyedtől származó, egymást követő tojások mészhéj-porozitása is eltérő lehet

(Tullett és Deeming, 1982; Tyler, 1955). Azt is figyelembe kell vennünk a különböző xenobiotikumok toxikológia vizsgálatakor, hogy az egyes anyagok döntő részben külön-külön kerülnek alkalmazásra. Azonban az egyidejűleg jelen lévő vegyi anyagok egymás mérgező hatását befolyásolhatják, és ezáltal jelentősen megváltozik az összességében kifejtett hatás (Várnagy, 1995). A madárteratológiai vizsgálatok során alkalmazott bemerítéses kezelés lehetővé teszi a madárembrióra gyakorolt indirekt hatások tanulmányozását, és így megfelelően modellezi a környezetben érvényesülő egyedi és interakciós károsító hatásokat (Lutz és Oterag, 1973; Hoffman és Gay, 1981).

Vizsgálatunkban egy tebukonazol hatóanyagú fungicid (MYSTIC 250 EC) és a környezeti fémterhelést modellező ólom-acetát egyedi és együttes méreghatását vizsgáltuk a tojásban fejlődő házityúk-embriókban annak igazolása érdekében, hogy a vegyi anyagok természetes körülmények között érvényesülő expozíciója embriótoxikus hatású lehet-e. Bár az elmúlt évtizedekben több olyan publikáció is megjelent az alapkutató szintjén, amelyben különböző vegyi anyagok együttes károsító hatását vizsgálták, mind madár, mind hal szervezeteken. Az engedélyezési gyakorlatban használatos ökotoxikológiai vizsgálati módszerek elsősorban csak az egyedi méreghatás vizsgálatára szorítkoznak, ezért a növényvédő szerek interakciós hatásaira vonatkozó adatok segítségével alaposabban megismerhetőek a környezeti vegyi anyag expozíciók káros következményei.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A környezeti ólomterhelés modellezéséhez az egyedi és együttes kezelések során 0,01%-os koncentrációjú ólom-acetát oldatot (Reanel-Ker Kft., Magyarország) alkalmaztunk, amelyet egy elővizsgálat eredményei alapján választottunk ki. Ennek során az ólom-acetát 1%, 0,1% és 0,01% koncentrációjú oldatainak embriótoxikus hatását tanulmányoztuk, hogy kiválasszuk azt a legalacsonyabb dózist, amely az interakciós vizsgálatban csak kismértékű embriótoxicitást mutat. A legalacsonyabb koncentráció (0,01%) már testtömeg-csökkenést és az embriómortalitás kismértékű fokozódását eredményezte. A 0,1%-os koncentráció esetében a testtömeg-csökkenés mellett az embriómortalitás már jelentősen fokozódott, így a 0,01%-os koncentráció alkalmazása mellett döntöttünk. A 250 g/l tebukonazol hatóanyagú MYSTIC 250 EC (Nufarm Hungaria Kft., Magyarország) gombaölő szer, mind az egyedi, mind a kombinációs kezelések során a gyártó által ajánlott töménységben (0,1%) került felhasználásra. A vizsgálati anyagok oldatainak és emulzióinak elkészítéséhez, illetve a kontroll tojások kezeléséhez 0,75%-os márdárfiziológiás sóoldatot használtunk fel. A kísérletben felhasznált termékeny tyúk-

tojások a Goldavis Kft. (Sármellék, Magyarország) vegyes hasznosítású, Farm faj-tájú tenyészetéből (apai és anyai vonal Farm) származtak. A tojások keltetését RAGUS® (Wien, Ausztria) típusú asztali keltetőgépben végeztük. A keltetés ideje alatt gondoskodtunk a megfelelő hőmérsékletről (37-38°C), a páratartalomról (65-75%) és a tojások naponta történő többszöri forgatásáról. A tyúktojásokat (n=40/csoport) a keltetés megkezdése előtt a vizsgálati anyagokból készült 37°C-os hőmérsékletű oldatokba és emulziókba, valamint azok kombinációjába helyeztük 30 perces időtartamra, majd a folyadék lecsepegtetése után behelyeztük azokat a keltetőgépbe, és beindítottuk a keltetést. A várható kelés előtt 2 nappal, a 19. napon került sor a tojások feldolgozására. A kórbonctani feldolgozás során jegyzőkönyvben rögzítettük az élő embriók testtömegét, az elhalt embriók számát és az élő embriókon megfigyelt makroszkópos deformitásokat. Az élő embriók testtömeg adatainak eloszlását grafikusán Comparison-QuantilePlot-tal ellenőriztük, majd a statisztikai értékelést egytényezős varianciaanalízissel (One-Way ANOVA) végeztük. Az embriómortalitási adatok és a fejlődési rendellenességek biometriaival értékeléséhez a Fisher-féle egzakt tesztet alkalmaztuk (Baráth és mtsai, 1996). A statisztikai értékelés során a szignifikancia minimum értékének a $p < 0,05$ szintet tekintettük.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

A fejlődési rendellenességek és az embrió elhalások számának és arányának alakulását az 1. táblázatban tüntettük fel.

1. táblázat

A fejlődési rendellenességek és az embrió elhalások számának és arányának alakulása tebukonazol hatóanyagú MYSTIC 250 EC és ólom-acetát bemerítéses kezeléssel elvégzett madárteratológiai vizsgálatában

Kezelt csoportok	db		%	
	Rendellenes fejlődésű embriók száma/élő embriók száma	Elpusztult embriók száma/termékeny tojások száma	Rendellenes fejlődésű embriók aránya	Elpusztult embriók aránya
Kontroll	0/37	1/38	0	2,6
Ólom-acetát	3/30	8/38 ^a	10	21,05
MYSTIC 250 EC	1/37	1/38	2,7	2,6
MYSTIC 250 EC + Ólom-acetát	3/31	7/38 ^a	9,67	18,42

^a Szignifikáns eltérés a kontroll csoporthoz viszonyítva ($p < 0,05$)

Table 1 Embryonic death and developmental anomalies from teratogenicity test of lead acetate and Mystic 250 EC in chicken embryos after single and combined administration by an immersion technique; ^a Significant difference as compared to the control ($p < 0,05$)

Kontroll csoport eredményei

A madárfiziológiás NaCl oldattal kezelt csoportban az embriók testtömege $20,30 \pm 1,28$ g volt. A kontroll csoportban egy embrió pusztult el, így a termékeny tojások számához viszonyítva az elhalt embriók aránya 2,6% volt. Fejlődési rendellenességet mutató embrió nem fordult elő, ami lehetővé tette a csoport viszonyítási alapként való alkalmazását.

Ólom-acetátos kezelés eredményei

Az ólom-acetát 0,01% koncentrációjú oldatával elvégzett egyedi bemerítéses kezelés eredményeként az embriók testtömeg értéke ($19,51 \pm 1,11$ g) szignifikánsan ($p < 0,05$) kisebb volt a kontroll csoport értékéhez ($20,30 \pm 1,28$ g) viszonyítva (1. ábra). A 0,01%-os ólom-acetát oldatába merített kezelés hatására 8 embrió halt el, az elpusztult embriók aránya (21%), ami szignifikánsan magasabb volt ($p < 0,05$) a kontroll csoportban megfigyelt elhalás mértékéhez (2,6%) képest. A nehézfémekkel kezelt embriók közül 3 embrió is károsodott a fejlődésben. Mindhárom egyedben deformálódott lábakat figyeltünk meg

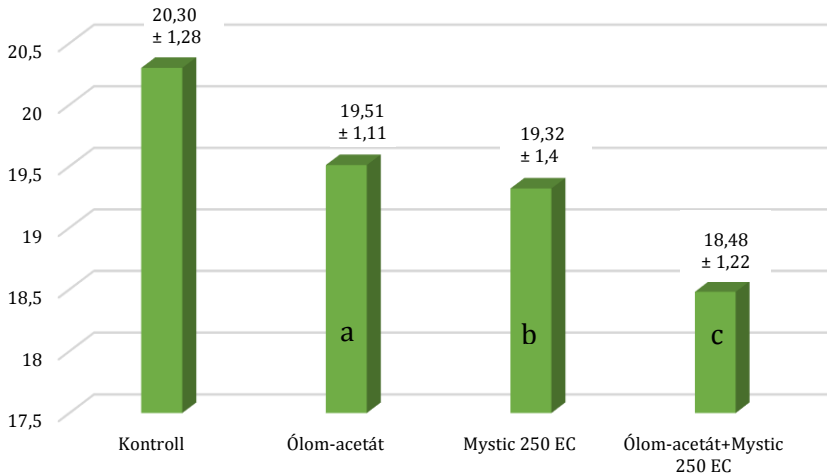
MYSTIC 250 EC kezelés eredményei

A tebukonazol hatóanyagú MYSTIC 250 EC egyedi toxicitásának vizsgálatokor a gombaölő szert 0,1%-os a növényvédelemben ajánlott gyakorlati permetlé töménységben alkalmazva azt tapasztaltuk, hogy a kezelés hatására a madár-embriók testtömege ($19,32 \pm 1,40$ g) szignifikánsan kisebb volt kontroll csoport adataihoz viszonyítva ($20,30 \pm 1,28$ g; $p < 0,01$). A fungiciddel egyedileg kezelt csoportban egy embrió pusztult el, az embriómortalitás aránya 2,6% volt. A növényvédő szerrel kezelt csoport élő embriói között egy esetben figyeltünk meg fejlődési rendellenességet, típusa görbült láb volt

Ólom-acetát és MYSTIC 250 EC együttes kezelés eredményei

A 0,01%-os ólom-acetáttal és a MYSTIC 250 EC 0,1%-os koncentrációjú emulziójával elvégzett együttes kezelés eredményeként szignifikáns mértékben ($p < 0,001$) csökkent az élő embriók testtömege ($18,48 \pm 1,22$ g) a kontroll csoportban mért értékekhez ($20,30 \pm 1,28$ g) viszonyítva. Szintén csökkenő tendencia volt tapasztalható a vizsgálati anyagok egyedi kezeléseikhez képest, amely az ólom-acetáttal egyedileg kezelt csoport testtömeg értékei ($19,51 \pm 1,11$ g) esetében 5,6%-os eltérés, míg a tebukonazol hatóanyagú MYSTIC 250 EC kezelt csoport testtömeg értékei ($19,32 \pm 1,40$ g) esetében 4,5% mértékben nyilvánult meg (1. ábra). Az ólom-acetáttal és gombaölő szerrel történt együttes kezelés hatására 7 embrió halt el, az elpusztult embriók aránya (18,4%) a kontroll csoporthoz viszonyítva (2,6%), a különbség szignifi-

káns volt ($p < 0,05$). Az ólom-acetáttal és a fungiciddel együttesen kezelt csoportban 3 élő embrió jelentkezett deformáció, amelynek típusa lábgörbülés volt. A kezelések hatására ugyan növekedett a fejlődési rendellenességek gyakorisága, de a változás sem az egyedileg, sem az együttesen kezelt csoportban nem volt statisztikailag igazolható a kontroll csoporthoz viszonyítva.



a= szignifikáns eltérés a kontroll csoporthoz képest ($p < 0,05$); b= szignifikáns eltérés a kontroll csoporthoz képest ($p < 0,01$); c= szignifikáns eltérés a kontroll csoporthoz képest ($p < 0,001$).

1. ábra: Embrionális testtömeg adatok alakulása (g) a tebukonazol hatóanyagú MYSTIC 250 EC és az ólom-acetát bemerítéses kezeléssel elvégzett egyedi és együttes méreghatásának madárteratológiai vizsgálatában.

Figure 1. Body weight (g) of the chicken embryos on day 19 of incubation from teratogenicity test on Mystic 250 EC and lead acetate after single and simultaneous administration by an immersion technique. a=Significance decrease as compared to the control ($p < 0,05$); b=Significance decrease as compared to the control ($p < 0,01$); c=Significance decrease as compared to the control ($p < 0,001$)

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Az 0,01%-os ólom-acetát oldattal elvégzett egyedi kezelés eredményei alapján megállapítható, hogy a kísérletben alkalmazott koncentráció embriótoxikus volt, amely szignifikáns mértékű testtömeg-csökkenésben és szignifikáns mértékben növekedett embrióelhalásban nyilvánult meg. Teratogén hatás azonban nem volt igazolható, mivel a fejlődési rendellenesség előfordulási gyakori-

sága alacsony volt. Korábban Fejes (2000) és Juhász (2009) hasonló eredményről számolt be 0,1% és 0,01%-os ólom-acetáttal elvégzett madárteratológiai vizsgálatban. A kezelések hatására a házityúk-embriók testtömege szignifikánsan csökkent, az elhalt embriók száma jelentősen növekedett, azonban fejlődési rendellenességek előfordulása sporadikus jellegűek voltak.

A Mystic 250 EC növényvédő szerrel történt kezelés hatására szignifikáns mértékű változás csupán a testtömeg-csökkenésben nyilvánult meg, statisztikailag igazolható eltérés az embriomortalitás és a fejlődési rendellenességek esetében nem volt megfigyelhető. Giavini és Menegola (2010) a mezőgazdaságban és a humán gyógyászatban gombaölő szerként alkalmazott azol-származékok toxikológiai állatkísérleti eredményeik alapján megállapították, hogy a különböző azol típusú fungicidek nagy dózisban teratogén hatásúak, arc, csontvázterengely és végtag rendellenességek kialakulását eredményezik.

A környezeti fémterhelést modellező ólom-acetát és a gombaellenes vegyszeres kezelésként használható MYSTIC 250 EC együttes hatása szintén embriótoxikusnak bizonyult, hiszen szignifikánsan csökkent az embriók testtömege, és nőtt az embriómortalitások száma, de teratogén hatást itt sem tapasztaltunk, mivel a fejlődési rendellenességek tekintetében itt sem bizonyultak statisztikailag igazoltnak az eltérések.

Az együttes méreghatás additív formában nyilvánult meg. Saját vizsgálati eredményeinkkel összhangban a növényvédő szerek kombinációi általában fokozzák, sőt egyes esetekben akár jelentősen növelhetik az összetevők méreghatását, ezáltal természetesen felhasználásuk is kockázatos. Ezek a hatások faj-, idő-, illetve dóziszfüggőek, ezért meglehetősen nehéz előre jelezni a potenciális károsító hatást (Thompson 1996).

A környezetszennyező nehézfémek és növényvédő szerek egyedi és együttes hatásainak madárteratológiai vizsgálataiból származó eredmények értékelése nagyban hozzásegíthet ahhoz, hogy a környezeti élőszervezetek védelmét a lehető legmagasabb szinten tudjuk biztosítani.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A publikáció elkészítését az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008 számú projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

IRODALOM

Baráth Cs., Ittész A. és Ugródsy Gy. (1996): *Biometria*. Mezőgazda Kiadó, Budapest. 37-217.

- Fejes S. (2000): Az ólom-acetát és DITHANE M-45 együttes toxicitásának vizsgálata háziyúk embrión. Diplomadolgozat. Veszprémi Egyetem, Keszthely. 15-25.
- Fejes S. (2005): Egyes nehézfémek és növényvédő szerek egyedi és együttes méreghatásának vizsgálata madárteratológiai tesztben, Doktori Értekezés, Veszprémi Egyetem, Keszthely. 83-84.
- Giavini E., Menegola E. (2010): Are azole fungicides a teratogenic risk for human conceptus? *Toxicology Letters*, 198(2): 106-111. DOI: [10.1016/j.toxlet.2010.07.005](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.07.005)
- Hoffmann D. J., Gay M. L. (1981): Embryotoxic effect of benzo(a)pyrene, chrysene and 7,12-dimethylbenz(a) anthrance in petroleum hydrocarbon mixtures in mallard ducks. *J. Toxicol. Environ. Hlth.*, 7(5):775-787. DOI: [10.1080/15287398109530019](https://doi.org/10.1080/15287398109530019)
- Juhász É. (2009): Herbicidek (Stomp 330 EC, Dikamin D) és nehézfémek (Réz, Kadmium, Ólom) egyedi és együttes méreghatása madárembriókon, Doktori Értekezés, Pannon Egyetem, Keszthely. 130-131.
- Lutz H., Oterag Y. (1973):Pesticides teratogenese et surricchez les oiseaux. *Arch. Anat. Hist. Embr.*, 56:65-68.
- Thompson H. M. (1996): Interaction between pesticides; A review of reported effects and their implications for wildlife risk assessment. *Ecotoxicology*, 5(2): 59-81. DOI: [10.1007/bf00119047](https://doi.org/10.1007/bf00119047)
- Tullett S. G., Deeming D. C. (1982): The relationship between egg shell porosity and oxygen consumption of the embryo in domestic fowl. *Comp. Biochem. Physiol. Part A*, 72(3): 529-533. DOI: [10.1016/0300-9629\(82\)90118-9](https://doi.org/10.1016/0300-9629(82)90118-9)
- Tyler C. (1955): Studies on egg shells. VI. - The distribution of pores in egg shell. *J. Sci. Food. Agric.*, 6(3): 170-176. DOI: [10.1002/jsfa.2740060310](https://doi.org/10.1002/jsfa.2740060310)
- Várnagy L. (1995): Teratogenicity testing of pesticides on bird fetuses. *Hung. Agr. Res.*, 2:30-33.



Mikotoxinok hatása az életminőségünkre

Kovács Melinda^{1, 2, *}

¹Kaposvári Egyetem Agrár- és Környezettudományi Kar, Mikotoxinok az Élelmiszerláncban Kutató-csoport; ²MTA-KE-SZIE Mikotoxinok az Élelmiszerláncban Kutatócsoport, 7400 Kaposvár, Guba S. u. 40.

ABSTRACT - Mycotoxins affecting quality of life

Author(s): Melinda Kovács^{1,2}

Affiliation(s): (1)Kaposvár Universty Faculty of Agricultural and Environmental Sciences, Mycotoxins in the Food Chain Research Group; (2)MTA-KE-SZIE Mycotoxins in the Food Chain Research Group, 7400 Kaposvár, Guba S. street 40., Hungary

The paper is a written version of the scientific presentation given on the annual meeting of the Regional Committee of the Hungarian Academy of Sciences in Pécs (on 22 February of 2018 in Pécs). The number of people dying as a result of foodborne diseases is about 420.000. The global burden of foodborne diseases caused in 2010 was 33 million DALYs (Disability-Adjusted Life Year). Mycotoxins are secondary metabolites of fungi, found all around the world as natural contaminants, still unavoidable in the human food chain. This paper provides current data on the worldwide occurrence of mycotoxins and introduces their human health and food safety risks. It summarizes human exposure data in Europe determined by multi-biomarker analyses using human urine samples. It highlights the importance of multi-mycotoxin exposure assessments because of the complexity of mycotoxin interactions. Multi-mycotoxin contamination, the co-contamination of emerging and masked mycotoxins makes the continuous monitoring and revision of limit values necessary.

Keywords: mycotoxins, human exposure, human health effects, interactions

ÖSSZEFOGLALÁS

A közlemény az MTA Pécsi Területi Bizottsága (PAB) éves közgyűlésén (Pécs, 2018. február 22.) elhangzott tudományos előadás anyaga. Az élelmiszer eredetű megbetegedéseknek évente kb. 420 000 halálos áldozata van, a megbetegedések gazdasági hatása is jelentős, kb. 33 millió egészséges életév veszteséget (Disability-Adjusted Life Year, DALYs) okoz. A mikotoxinok a penészgombák szekunder anyagcsere termékei, természetes környezetszennyező anyagok, amelyeket ma még nem lehet kiiktatni az élelmiszerláncból. A közlemény adatokat mutat be takarmányok mikotoxin szennyezettségére vonatkozóan, ismerteti a mikotoxinok élelmiszerbiztonsági kockázatát. Példákat szolgáltat európai országok lakosságának mikotoxin expozíciójára, vizeletmintákban biomarkerek mérése alapján. Kiemeli a multitoxikus hatások jelentőségét, az

*CORRESPONDING AUTHOR

Kaposvári Egyetem, Agrár – és Környezettudományi Kar

✉ 7400 Kaposvár, Guba S. u. 40., ☎ +36-82-505-800

E-mail: kovacs.melinda@ke.hu

egyek mikotoxinok interakciójának bonyolultságát. A multitoxikus hatások, a módosított és kötött (maszkolt), valamint az ún. emerging mikotoxinok együttes szennyezése szükségessé teszi a folyamatos monitorozást és a határértékek időszaki felülvizsgálatát.

(*Kulcsszavak:* mikotoxin, humán expozíció, egészségügyi hatások, interakciók)

BEVEZETÉS

Az évszázad kihívása az emberek megfelelő mennyiségű és minőségű, egészséges és biztonságos ételmiszerrel való ellátása. Az ételmiszer és a táplálkozás a szervezetünk számára nélkülözhetetlen táplálóanyag forrást jelenti, de túl ezen, nagyon fontos társadalmi, családi esemény, az életminőség egyik fontos eleme, egyben hagyományok és szokások őrizője. Az ételmiszer előállítás gazdasági alappillér is. Ismert ugyanakkor, hogy a szervezetre káros anyagok több mint 70%-a a táplálékkal illetve az ivóvízzel jut be a szervezetünkbe. Ennek megelőzését szolgálja az ételmiszerbiztonság, amelynek lényege, hogy az ételmiszer ne legyen ártalmas a fogyasztó egészségére, ha azt a szokásos módon készíti és fogyasztja el (*FAO/WHO, 1969*).

2010-ben jelent meg a második Eurobarometer jelentés, amely összegzi az uniós fogyasztók ételmiszerekkel összefüggő kockázatokról szóló vélekedéseit (*EC, 2010*). Az Európai Unió 27 tagállamának bevonásával készült a felmérés, 15 év feletti fogyasztók anyanyelvükön folytatott személyes interjúja alapján. Közel 27 ezer embert kérdeztek meg. Az ételmiszerekkel kapcsolatos tapasztalataikra vonatkozó kérdés esetében a válaszadók többsége az ételt és az étkezést az élvezettel, például a friss és ízletes ételmiszerek kiválasztásával (58%) vagy a családi és baráti körben való étkezés örömeivel (54%) hozza összefüggésbe. A válaszadók 37%-át foglalkoztatja az ételmiszerbiztonság kérdése. Más kockázatokkal összehasonlítva több uniós polgár gondolja úgy, hogy a gazdasági válság (20%) és a környezetszennyezés (18%) nagyobb valószínűséggel gyakorol hatást az életükre, mint az ételmiszer által okozott egészségkárosodás esetleges kockázata (11%). Az ételmiszerekkel kapcsolatos lehetséges kockázatok miatt aggódó személyeket jobban aggasztja az ételmiszerek vegyi szennyezése, mint a bakteriális szennyezés vagy az egészségügyi és táplálkozástani kérdések.

Több mint 200 ételmiszer eredetű megbetegedés ismert. A legtöbb ember élete során legalább egyszer szembekerül ételmiszerbiztonsági problémával. Minden 10. ember évente megbetegszik fertőzött vagy szennyezett ételmiszer fogyasztása miatt. Ennek évente kb. 420 000 halálos áldozata van, közülük kb. 125 000 gyermek. A megbetegedések gazdasági hatása is jelentős, kb. 33 milliárd

egészséges életév veszteséget okoz (Disability-Adjusted Life Year, DALYs) (WHO, 2015).

A MIKOTOXIN SZENNYEZETTSÉG NÉHÁNY JELLEMZŐJE

A mikotoxinok a penészgombák másodlagos anyagcsere termékei, természetes környezetszennyező anyagok. Kialakulásuk feltétele a penészgombáknak a növényeken való elszaporodása, majd adott környezeti körülmények hatására a gomba másodlagos anyagcserére tér át és mérgező hatású vegyületeket termel. Ezek száma több ezer, de komoly állat- vagy humánegészségügyi hatása kb. 20 mikotoxinra van. Az általuk előidézett megbetegedések a mikotoxikózisok.

Az élelmiszertermelés teljes vertikumában megtalálhatóak, mennyiségüket számos biológiai, környezeti, technológiai és emberi tényező befolyásolja. A növények penészgomba fertőződése egy bonyolult gazdanövény - penészgomba interakciót eredményez. Az, hogy a penészgomba mikor és miért tér át másodlagos anyagcsere folytatásra, részleteiben még nem ismert. A védekezés, megelőzés alapja a penészgomba fertőzés megakadályozása, csökkentése.

Az ember szervezetébe a mikotoxinok bejuthatnak közvetlenül, szennyezett növényi eredetű élelmiszerek fogyasztásával, vagy állati eredetű élelmiszerekkel, ha a takarmány a javasolt határértékeken felüli mennyiségben tartalmaz toxint és az akkumulálódik az állat fogyasztásra kerülő szerveiben, szövetekben (pl. máj, zsír, hús), vagy kiválasztódik a tejjel vagy a tojással. Ez utóbbi, az ún. 'carry over' ritka, csak néhány mikotoxinra és néhány állati termékre jellemző (pl. az aflatoxin M1 megjelenése a tejben).

Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) a WHO és a FAO tudományos tanácsadó testülete, amely felméri a mikotoxinok okozta kockázatot. Ezek alapján az Egyesült Államokban a Food and Drug Administration (FDA), míg az Európai Unióban az Európai Közösség (EK) állapítja meg a szabályozott vagy ajánlati értékeket. Az EK tanácsadó testülete a European Food Safety Authority (EFSA), amely Európában a fő kockázatbecslésért felelős intézmény.

Az EU-ban mikotoxinokra vonatkozó hatályos jogszabályok, illetve ajánlások: Regulation (EC) No 1881/2006, Directive 2002/32/EC, Recommendations 2006/576/EC és 2013/165/EU. Ezek alapján szabályozás alá eső, vagy ajánlati határértékekkel rendelkező mikotoxinokról beszélünk.

Évek óta a BIOMIN kutatóközpontja végzi a legteljesebb körű monitorozást kész takarmányok és alapanyagok mikotoxinok szennyezettségére vonatkozóan (<http://www.biomin.net/en/about/research/>). A legújabb, 2017-ben ¾ évet felölelő, 69 országot érintő, 13.153 mintából elvégzett 51.197 analízis

eredményei alapján a korábbi évekhez hasonló tendencia látszik: a leggyakoribb szennyező a deoxinivalenol (DON), ezt követi a zearalenon (ZEA) és a fumonizinek (FUM). Az eltérő éghajlati viszonyok miatt jelentősek a regionális eltérések, hiszen az egyes penészgombák szaporodása és toxintermelése eltérő környezeti feltételek mellett következik be. A pozitívítás az adott analitikai módszerrel még kimutatható legkisebb mennyiséget jelent – ez a nagyon gyorsan fejlődő módszereknek és eszköz háttérnek köszönhetően egyre kisebb (*1a ábra*). Ennél informatívabb a megengedhető határérték feletti, kockázatot jelentő minták aránya (*1b ábra*).

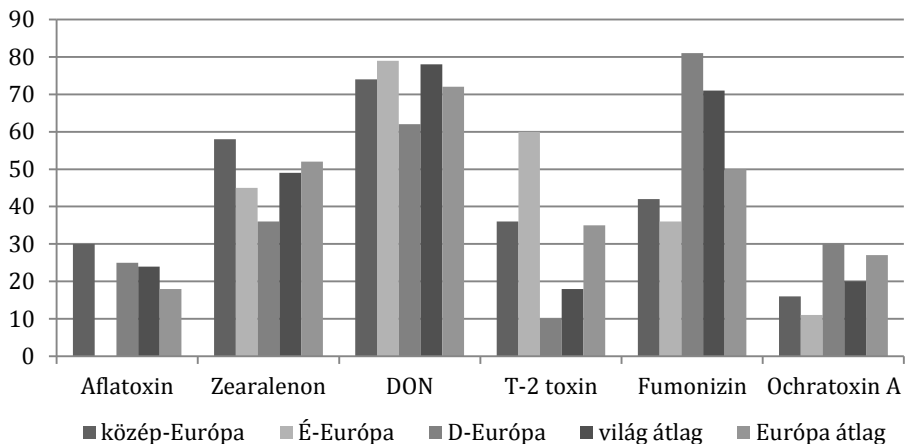
Ezek aránya Európában láthatóan alacsony, a tendencia itt is hasonló: DON > ZEA > FUM. A DON a trichotecén toxinok közül a kevésbé toxikusak közé tartozik, de immunszuppresszív hatású. A ZEA toxicitása is alacsony, de ösztrogén hatást vált ki a szervezetben. A FUM toxicitása nagyobb, és fő képviselőjük a FB1 potenciálisan rákkeltő (IARC, 1993).

Ezek a vizsgálatok felhívják a figyelmet az adott időszakban nagyobb kockázatnak kitett régiókra, valamint, az éves adatok összevetése hosszútávon a klímaváltozással kapcsolatos eltéréseket is jelezhetik. Felhívják a figyelmet továbbá arra is, hogy a mikotoxinok sosem önmagukban fordulnak elő, hanem mindig multi-toxikus hatással kell számolnunk. Egy-egy minta átlagosan 33 mikotoxint tartalmazott és a minták 97%-ában a mikotoxinok, illetve metabolitok száma 10 és 60 között változott.

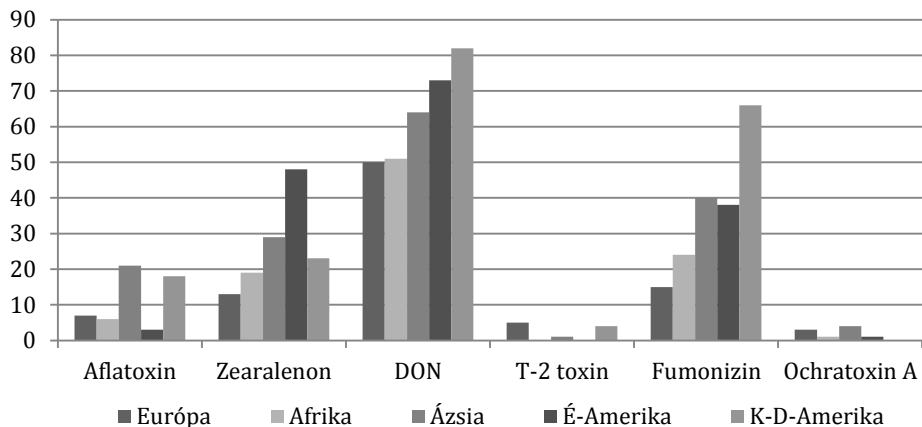
Egy hazai sertéstelepen a közvetlenül az állatok által elfogyasztott takarmány minták mikotoxin szennyezettségének felmérése azt mutatta, hogy a vizsgált minták többsége 74 mikotoxint, illetve metabolitot tartalmazott. A három leggyakoribb *Fusarium* toxin átlag koncentrációi 2016-ban és 2017-ben nagyon jól mutatják az időjárás hatását: 2016-ban 2017-es évhez képest melegebb és csapadékosabb nyár szignifikánsan nagyobb mennyiségeket eredményezett (*2. ábra*). Bár egyik minta sem mutatott egy mikotoxin esetében sem határérték feletti szennyezettséget, az eredmények felhívják a figyelmet a folyamatos monitorozás szükségességére (Szabó-Fodor és mtsai. 2018).

Élelmiszerekre vonatkozóan hasonlóan átfogó és rendszeres monitorozást nem végeznek. Az egyes élelmiszerek az alábbi mikotoxinokat tartalmazhatják a leggyakrabban: tej és tejtermékek (AFM₁), hús és hústermékek (OTA), tojás (DON, AFB₁, CPA), gabonamagvak (AFB₁, *Fusarium* toxinok, OTA), olajos magvak (AFB₁), bor, szőlő (OTA), sör (OTA, AFB₁, *Fusarium* toxinok), gyümölcsök, gyümölcslevelek, fűszerek (OTA, citrinin, patulin, *Fusarium* toxinok), kávé, kakaó (OTA) (Galvano és mtsai., 2015).

1a: A pozitív minták %-os aránya

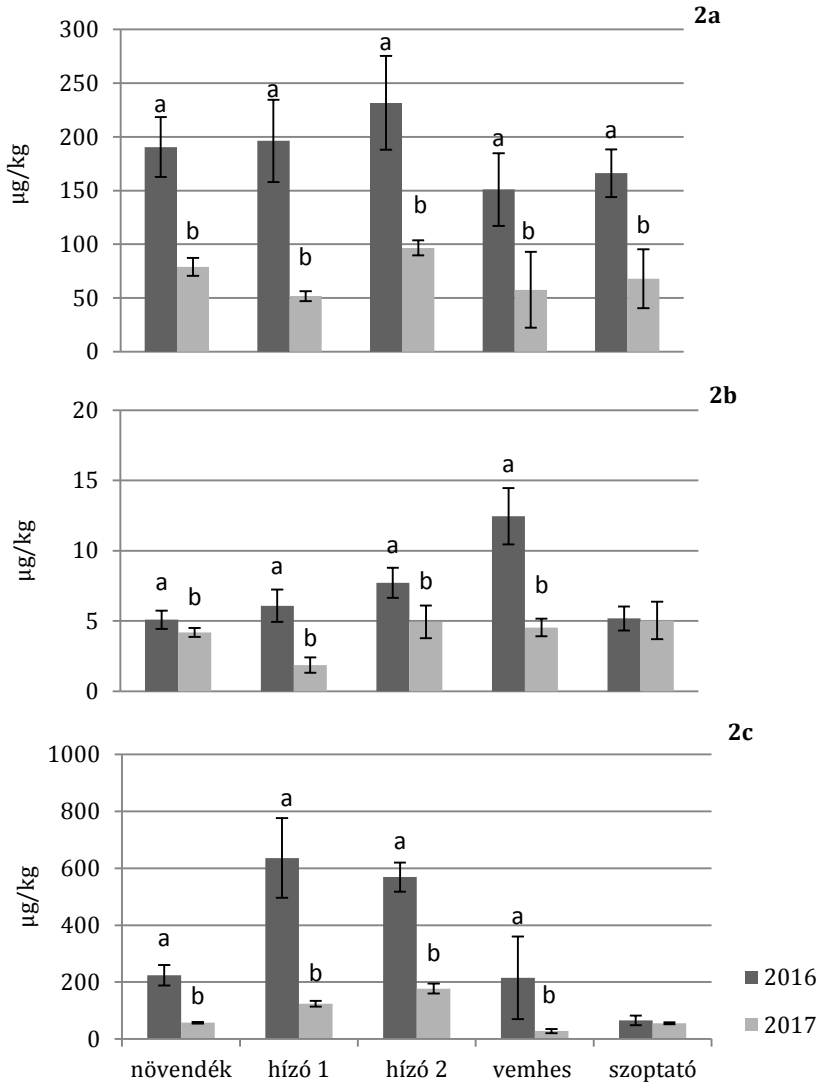


1b: A kockázatot jelentő minták aránya (%)



1. ábra. A BIOMIN 2017-es felmérésében a pozitív és a kockázatot jelentő takarmányminták %-os aránya

Figure 1. Ratio (%) of positive samples (1. a) and of those of risk (1. b) according to the mycotoxin survey of BIOMIN in 2017; Közép-Európa (Central Europe), É-Európa (Northern Europe), D-Európa (Southern Europe), világ átlag (world average), Európa átlag (European average), Európa (Europe), Afrika (Africa), Ázsia (Asia), É-Amerika (North America), K-D-Amerika (Central and South America)



2. ábra: Hazai sertés takarmányok DON (2a), ZEA (2b) és FB1 (2c) szennyezettsége 2016-ban és 2017-ben

Figure 2. DON, ZEN and Fumonisin B1 (2a, 2b and 2c respectively) contamination of complete feed for pigs in 2016 and 2017; növendék (growing pigs), hízó 1, hízó 2 (fattening pigs <65 kg, 65-90 kg), vemhes (pregnant), szoptató (lactating)

A legnagyobb kockázatot a gabonamagvak, azokon belül is a kukorica és a búza jelentik. Ezek kifejezetten érzékenyek *Fusarium* fajokra, amelyek már a szántóföldön fertőzik a növényt, és a betakarítás után, nem megfelelő tárolási körülmények között is képesek tovább szaporodni és toxint termelni. Valamint azért is, mert ezekből sokat fogyasztunk.

Az Európai Unió országában működik az ún. Gyors veszélyt-jelző rendszer (Rapid Alert System on Food and Feed, RASFF), ahová a tagállamok haladéktalanul jelentik az élelmiszerekből és takarmányokból származó, az emberi egészséget közvetve vagy közvetlenül érintő veszélyt. Az információt minden tagállam megkapja, illetve egy központi adatbázisban mindenki számára hozzáférhetőek. A mikotoxin szempontjából kockázatot jelentő élelmiszerek több mint 90%-a aflatoxin szennyezettséget mutat, az érintett élelmiszerek többségben a harmadik országokból érkező olajos magvak, aszalt zöldségek, gyümölcsök, fűszerek. A bejelentések többsége határról való visszafordításról szól.

MIKOTOXINOKRA VISSZAVEZETHETŐ HUMÁN MEGBETEGEDÉSEK

Fejlett országokban a lakosság táplálkozására nagyon változatos étrend jellemző. A szupermarketeknek, kiskereskedéseknek érdeke megfelelni a legszigorúbb minőségi és biztonsági előírásoknak. Fejlődő, vagy elmaradott országokban, illetve régiókban a lakosság táplálkozása egyoldalú, saját előállítású, vagy helyileg beszerzett alapanyagokra épül, ezek kevésbé ellenőrzöttek. Éppen ezekben az országokban hiányzik az élelmiszerbiztonsági kockázatot jelentő anyagokra (pl. mikotoxinokra) vonatkozó törvényi szabályozás, határértékek megállapítása, betartatása.

Dél-Afrikában az 1 főre jutó napi kukorica fogyasztás átlagosan 110 g. Ez esetben alacsony toxin szennyezettség esetén is meghaladhatja a napi toxinfelvétel a FAO és WHO közös szervezete a JECFA által meghatározott tolerálható határértéket, amely 2 µg/testsúly kg/nap. Ugyanakkor éppen ezek azok a területek, ahol magasabb toxin szennyezettséggel kell számolni. Míg az európai országokban a lakosság a tolerálható határérték max. 10%-át veszi fel naponta, addig az elmaradottabb régiókban a határérték többszörösét fogyasztják (840-26 400 µg/testsúly kg/nap) (Marasas, 1997).

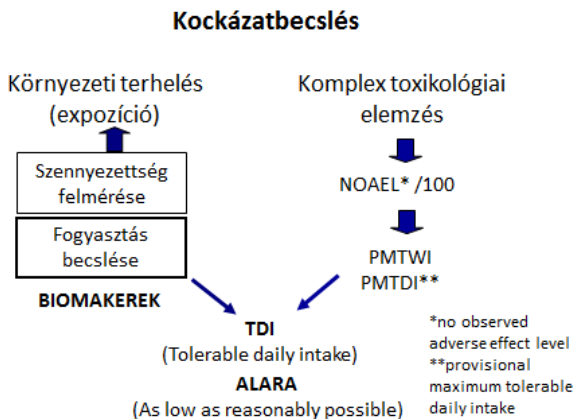
A kukorica egyoldalú fogyasztásával összefüggően kialakuló multifaktoriális betegségcsoport Afrikában az afrikai *Fusarium* – kukorica betegség elnevezést kapta („The African *Fusarium* / maize disease). A korábban ismeretlen eredetűnek tartott megbetegedések hátterében a kukorica FB1 szennyezettsége mellett egyéb tényezők is szerepelnek: a kukoricában lévő

egyéb mikotoxinok (főként zearalenon, trichotecének és aflatoxin), a kukorica alacsony fehérje és vitamintartalma, valamint egyéb hajlamosító hatások. A betegek véréből ki lehetett mutatni a FB1-et. Ismerve azt, hogy a FB1 kis mértékben szívódik fel és viszonylag gyorsan kiürül, ez azt jelzi, hogy ezek az emberek folyamatosan, viszonylag nagy expozíciónak vannak kitéve (Dutton, 2009).

Fejlődő országok elmaradottabb régióiban még ma is előfordulhatnak akut megbetegedések. A legutóbbi súlyos eset Kenyában történt, 2004-ben, akut aflatoxin mérgezés, helyileg termesztett és nem megfelelően tárolt kukorica fogyasztását követően. 317 beteget regisztráltak akut hepatitis-sel, közülük 125-en meghaltak. A megvizsgált minták több mint 50%-ában az AFB1 tartalom meghaladta a megengedett határértéket (20 µg/kg), számos esetben 50-400 szoros mennyiséget mértek (Azziz-Baumgartner és mtsai. 2005).

KOCKÁZATBECSLÉS

A kockázatbecslés a korszerű élelmiszerbiztonsági rendszer alapját képezi. Célja, tudományos ismeretekre alapozva meghatározni azt, hogy az élelmiszerben a vizsgált egészségkárosító anyag (pl. mikotoxin) milyen mértékben van jelen, és ez az elfogyasztott mennyiség, valamint az illető anyag toxicitása függvényében milyen mértékű és milyen jellegű egészségkockázatot jelent (3. ábra).



3. ábra. A kockázatbecslés főbb elemei

Figure 3. Main components of risk assessment; Környezeti terhelés (environmental exposure), szennyezettség felmérése (assessment of contamination), fogyasztás becslése (assessment of consumption), komplex toxikológiai elemzés (complex toxicological characterisation), biomarkerek (biomarkers)

A Kaposvári Egyetemen kutatásaink fő iránya több mint 20 éve a kockázatbecsléshez adatokat szolgáltatni.

A környezeti terhelés meghatározásához takarmányok és élelmiszerek mikotoxin tartalmának monitorozását végezzük, a toxikológiai vizsgálatokkal pedig a tolerálható határértékek meghatározáshoz szolgáltatunk alapadatokat. A kockázatbecslés legtöbb bizonytalansággal terhelt tényezője a fogyasztás becslése, azaz, hogy adott élelmiszerfélésekből mennyit fogyasztunk. Az expozícióbecslés pontosabb és nagyon fontos lehetősége a biomarkerek alapján történő felmérés.

Az élelmiszerminták mikotoxin tartalmának monitorozása nagyon hasznos a kockázatos földrajzi területek meghatározásában, de fogyasztási adatok nélkül becslése miatt nem ad pontos tájékoztatást a tényleges mikotoxin felvételre. A human expozícióbecslés sokkal pontosabb a vizeletminták mikotoxin tartalmának meghatározása alapján, amely ma az egyetlen validált, elfogadott módszer az expozíció becslésben.

Számos felmérés igazolta azt, hogy az emberek is folyamatosan ki vannak téve mikotoxinok hatásának. A mai modern analitikai módszerek elterjedésének köszönhetően nő azoknak a felméréseknek a száma, amelyek azt igazolják, hogy a szervezet multi-toxikus hatásoknak van kitéve. Ennek oka: adott környezeti feltételek több penészgomba elszaporodásának kedveznek. Egy-egy penészgomba egyszerre több mikotoxint is termel. Az állatok takarmánya többféle alapanyagból kerül összeállításra, amelyek különböző toxinokat tartalmazhatnak. Ezek földrajzi eredete is eltérő lehet. Még bonyolultabb a helyzet az ember esetében, hiszen a táplálékok köre sokkal tágabb, pl. az élvezeti termékek vagy fűszerek is számos mikotoxinnal lehetnek szennyezettek (kávé, paprika, sör, üdítő italok).

Egy németországi tanulmányban egészséges emberek vizeletmintájából végeztek multitoxin analízist (23 mikotoxinra ill. metabolitra). A minták 87%-a pozitív volt, és ezen belül a minták több mint fele egynél több toxint tartalmazott. A leggyakoribb mikotoxinok a DON és annak metabolitjai voltak. Az átlagos expozíció alacsony volt (0,52 µg/kg testsúly/nap), de a számítások szerint a vizsgált egyedek 12%-a esetében a DON terhelés meghaladta a megállapított tolerálható határértéket (1 µg/kg testsúly/nap, SCF, 2002) (*Gerding és mtsai.* 2014). Hasonló felméréseket több európai országból is publikáltak. Az 1. táblázatban hivatkozott szakirodalmak európai országokban végzett felmérések eredményeit tartalmazzák, kiemelve azt, hogy a vizsgálat egyedek hány %-a esetében haladta meg a bevitel a tolerálható határértékeket. Az egyes ta-

nulmányok eredményei nehezen összehasonlíthatóak, hiszen az egyes országokban eltérő módszertannal dolgoztak, pl. a vizsgálatba vont egészséges emberek kiválasztásának kritériumai, egyedszám, a vizelet mintavételezésének módja, mikotoxin analitika, stb.. Ezek a módszertani eltérések szignifikánsan befolyásolják a kapott eredményeket. Ez felhívja a figyelmet arra is, hogy nagy szükség lenne egységes módszertan kidolgozására és annak alkalmazására rendszeres monitorozás keretében.

1. táblázat

Vizeletminták DON tartalma alapján számított DON expozíció néhány európai országban

Ország	PDI ¹	TDI ² felett (%)	Hivatkozás
Ausztria ³	0,38-2,2	33	Warth et al. (2012)
Belgium ⁴	0,03-10,08	16-39	Heyndrickx et al. (2015)
Egyesült Királyság ⁵	0,008-1,244	17	Turner et al. (2010)
Horvátország ⁶	0,1-33,1	48	Sarkanj et al. (2012)
Olaszország ⁷	5,9	6	Solfrizzo et al. (2014)
Spanyolország ⁸	0,06-1,07	8	Rodriguez-Carraso et al. (2014)
Svédország ⁹	0,002-5,448	1	Wallin et al. (2013)

⁽¹⁾PDI = probable daily intake (µg/kg testsúly/nap), ⁽²⁾TDI = 1 µg/kg testsúly/nap (SCF, 2002)

Table 1. Human DON exposure in some European countries calculated by the DON content of urine samples; (3) Austria, (4) Belgium, (5) United Kingdom, (6) Croatia, (7) Italy, (8) Spain, (9) Sweden

MIKOTOXINOK LEHETSÉGES KÖLCSÖNHATÁSAI

A multi-mikotoxin szennyezettség felveti a toxinok interakciójának kérdését. Több toxin együttes hatása nem becsülhető előre az egyes toxinok önálló hatása alapján, hiszen azok egymás hatását felerősíthetik, vagy antagonistá módon is hathatnak. Az interakció jellegét számos tényező befolyásolja: állatfaj, életkor, toxinkoncentráció, hatás időtartama, az érintett/vizsgált szerv, vizsgálat paraméter, stb. (Grenier és Oswald, 2011). Az irodalmi adatok alapján az együttes hatás az esetek többségében jelentősebb, mint azt a két toxin külön-külön kifejtett hatása alapján becsüljük („Az egész több, mint a részek összessége”, *Arisztotelész*, 384-322 BC). A problémakör felveti a tolerálható határértékek és a szabályozás megfelelő voltának kérdését, tekintettel arra, hogy ezek a mikotoxinok önálló toxicitása alapján kerültek meghatározásra. Hogyan befolyásolhatják egyes toxin kölcsönhatások a mikotoxinokra meghatározott tolerálható értékeket?

A multitoxikus hatásokat vizsgáló kísérleteket összevetve azt tapasztaltuk, hogy kevés az alacsony dózisu mikotoxin kölcsönhatás vizsgálat. A legtöbb

adat aflatoxinra vonatkozik, kevesen vizsgálták *Fusarium* toxinok együttes hatását.

Ezért vizsgálat sorozatot indítottunk el a leggyakoribb *Fusarium* toxinok együttes hatásának megismerésére. A vizsgálatok egy részében *in vitro* cito- és genotoxicitási tesztben vizsgáljuk a mikotoxinok önálló, kettős és hármas kombinációiban a koncentráció és az expozíciós idő függvényében kifejtett hatást. A vizsgálatok másik részében bizonyos toxin kombinációkat állatkísérletekben tesztelünk. Ezek eredményeit részletesen publikációink mutatják be (*Hafner és mtsai.* 2016; *Kachlek és mtsai.* 2017; *Szabó és mtsai.* 2018; *Szabó-Fodor és mtsai.* 2015). Eredményeink igazolják a multitoxikus hatások bonyolultságát. Egy toxikus molekula több mechanizmust is érint a sejt vagy a szervezet szintjén, ugyanakkor egy adott sejtválaszra más toxikus vegyületek is hatnak. Minden egyes toxin molekula esetében meg kell vizsgálni a toxin és a cél sejt molekuláris interakcióját. Ezek együttes hatását rendszerbiológiai szemlélettel, a rendszerbiológia módszereivel (genomika, transzkriptomika, proteomika, metabolomika = „omikák”) lehet megközelíteni.

AKTUÁLIS KIHÍVÁSOK A MIKOTOXIN KUTATÁSOKBAN

A kutatások egyik kiemelt kérdésköre továbbra is a fentiekben vázolt interakciók problémaköre. A mikotoxinokra vonatkozó kockázatbecslést ugyanis megnehezíti a mikotoxinok együttes előfordulása, a köztük kialakuló interakciók bonyolult, előre nehezen meghatározható volta.

A helyzetet tovább bonyolítja az, hogy számos olyan metabolitot találtak takarmány és élelmiszer alapanyagokban, amelyek rutin analitikai módszerekkel nem mutathatók ki, mert különböző módon kötött, vagy módosult formában vannak jelen, viszont a gyomor – béltraktusban emésztőenzimek hatására felszabadulnak és felszívódnak. Ez azt eredményezi, hogy az expozíció magasabb (akár 30-40%-al), mint azt a mikotoxin analitikai eredmények alapján becsüljük. Ez magyarázatot adhat arra, hogy miért okoznak egyes mikotoxinok alacsony koncentrációban is súlyos tüneteket.

A helyzetet tovább bonyolítja az ún. „emerging” mikotoxinok jelenléte. A leggyakrabban fertőző *Fusarium* penészgombák ugyanis a „klasszikus” toxinok mellett (trichotecének, zearalenon, fumonizinek) társ-szennyezőként más, kevésbé ismert toxikus másodlagos anyagcseretermékeket is termelnek, ezeket a szakirodalom „emerging” mikotoxinokként említi. Mivel akut toxikózist általában nem okoznak, a rutin mikotoxin analitikai vizsgálatok során általában nem vizsgálják. Gyakori előfordulásuk mg/kg mennyiségben ugyanakkor kockázatuk felmérését teszi indokolttá.

Kihívást jelent a klímaváltozás is. Mivel a penészgombák szaporodása és toxintermelése döntően a környezeti hőmérséklettől és a csapadék mennyiségétől függ, nagyon valószínűsíthető a mikotoxin profil megváltozása.

A mikotoxin kérdés globális összefogást igényel, nemcsak az egyes tudományterületek (mikológia, biokémia, növénykórtan, analitikai kémia, molekuláris biológia, toxikológia, élelmiszertudomány, orvostudomány, klímakutatás, ökológia, stb.) között, hanem a kutatásban dolgozók és a gyakorlati szakemberek, a jogalkotásban, szabályozásban, finanszírozásban stb. illetékes emberek és szervezetek között is.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A témához kapcsolódó kutatásokat, valamint a publikációk megjelenését a következő projektek támogatták: TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0039, GINOP-2.2.1-15-2016-00021, GINOP 2.3.2-15-2016-00046, EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005.

IRODALOM

- Azziz-Baumgartner, E., Lindblade, K., Giesecker, K., Rogers, H.S., Kieszak, S., Njapau, H., Schleicher, R., McCoy, L.F., Misore, A., DeCock, K., Rubin, C., Slutsker, L. (2005) Case-control study of an acute aflatoxicosis outbreak, Kenya, 2004. *Environ. Health Persp.*, 113(12): 1779-1783. DOI: [10.1289/ehp.8384](https://doi.org/10.1289/ehp.8384)
- BIOMIN, World Mycotoxin Survey, The Global Threat, January to September 2017 <http://www.biomin.net/en/articles/biomin-world-mycotoxin-survey-q3-2017/>
- Dutton, M.F. (2009) The African *Fusarium*/maize disease. *Mycotoxin Res.*, 25: 29-39. DOI: [10.1007/s12550-008-0005-8](https://doi.org/10.1007/s12550-008-0005-8)
- European Commission (2010) Special Eurobarometer. Food-related risks. Report. pp. 78.
- FAO/WHO (1969) General principles of food hygiene CAC/RCP 1-1969, rev-4 in 2003
- Galvano, F., Ritieni, A., Piva, G., Pietri, A. (2005) Mycotoxins in the human food chain. In: *The mycotoxin blue book* (ed.: Diaz, D.), Nottingham University Press, Nottingham, England, 187-224.
- Gerding, J., Cramer, B., Humpf, H. U. (2014) Determination of mycotoxin exposure in Germany using an LC-MS/MS multibiomarker approach. *Mol. Nutr. Food Res.*, 58: 2358-2368. DOI: [10.1002/mnfr.201400406](https://doi.org/10.1002/mnfr.201400406)
- Grenier, B., Oswald, I.P. (2011) Mycotoxin co-contamination of food and feed: meta-analysis of publications describing interactions. *World Mycotoxin J.*, 4: 285-313. DOI: [10.3920/wmj2011.1281](https://doi.org/10.3920/wmj2011.1281)
- Hafner, D., Szabó, A., D'Costa, L., Szabó-Fodor, J., Tornyo, G., Blochné Bodnár, Zs., Ölbeiné Horvatovich, K., Baloghné Zándoki, E., Bóta, B., Kovács, M. (2016) Individual and combined effects of feed artificially contaminated with with fumonisin B 1 and T-2 toxin in weaned rabbits. *World Mycotoxin J.*, 9: 613-622. DOI: [10.3920/wmj2016.2067](https://doi.org/10.3920/wmj2016.2067)
- Heyndrickx, E., Sioen, I., Huybrechts, B., Callebaut, A., De Henauw, S., De Saeger, S. (2015) Human biomonitoring of multiple mycotoxins in the Belgian population: Results of the BIOMYCO study. *Environ. Int.*, 84: 82-89. DOI: [10.1016/j.envint.2015.06.011](https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.06.011)
- IARC (1993) Toxins derived from *Fusarium moniliforme*: fumonisins B1 and B2 and fusarin C. *IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risk Hum.*, 56: 445-466.

- Kachlek, M., Szabó-Fodor, J., Blochné Bodnár, Zs., Horvatovich, K., Kovács, M. (2017) Preliminary results on the interactive effects of deoxynivalenol, zearalenone and fumonisin B1 on porcine lymphocytes. *Acta Vet. Hung.*, 65. 340–353. DOI: [10.1556/004.2017.033](https://doi.org/10.1556/004.2017.033)
- Marasas, W. F. O. (1997) Risk assessment of fumonisins produced by *Fusarium moniliforme* in corn. *Cereal Res. Comm.*, 25. 399–406.
- Rodriguez-Carrasco, Y., Molto, J. C., Manes, J., Berrada, H. (2014) Exposure assessment approach through mycotoxin/creatinine ratio evaluation in urine by GC–MS/MS. *Food Chem. Toxicol.*, 72. 69–75. DOI: [10.1016/j.fct.2014.07.014](https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.07.014)
- Sarkanj, B., Warth, B., Uhlig, S., Abia, W.A., Sulyok, M., Klapac, T., Krska, R., Banjari, I. (2013) Urinary analysis reveals high deoxynivalenol exposure in pregnant women from Croatia. *Food Chem. Toxicol.*, 62. 231–237. DOI: [10.1016/j.fct.2013.08.043](https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.08.043)
- Scientific Committee on Food (SCF): Opinion of the Scientific Committee on Food on *Fusarium* toxins. Part 6: Group evaluation of T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol and deoxynivalenol. SCF/CS/CNTM/MYC/27 Final 27 February 2002, Brussel, Belgium
- Solfrizzo, M., Gambacorta, L., Visconti, A. (2014) Assessment of multi-mycotoxin exposure in Southern Italy by urinary multi-biomarker determination. *Toxins*, 6. 523–538. DOI: [10.3390/toxins6020523](https://doi.org/10.3390/toxins6020523)
- Szabó, A., Szabó-Fodor, J., Fébel, H., Mézes, M., Balogh, K., Bázár, Gy., Kocsó, D., Omeralfaroug Ali, Kovács, M. (2018) Individual and combined effects of fumonisin B1, deoxynivalenol and zearalenone on the hepatic and renal membrane lipid integrity of rats. *Toxins*, 10(1): 4. DOI: [10.3390/toxins10010004](https://doi.org/10.3390/toxins10010004)
- Szabó-Fodor, J., Kachlek, M., Cseh, S., Somoskői, B., Szabó, A., Blochné Bodnár, Zs., Tornay, G., Mézes, M., Balogh, K., Glávits, R., Hafner, D., Kovács, M. (2015) Individual and combined effects of subchronic exposure of three *Fusarium* toxins (fumonisin B, deoxynivalenol and zearalenone) in rabbit bucks. *J. Clin. Toxicol.*, 5: 264. DOI: [10.4172/2161-0495.1000264](https://doi.org/10.4172/2161-0495.1000264)
- Szabó-Fodor J., Bóta B., Mihucz G., Sulyok, M., Tenke J., Kovács M. (in press) Hazai sertés takarmányok multi-mikotoxin szennyezettségének felmérése. *Magyar Állatorvosok Lapja*
- Turner, P. C., Hopton, R. P., Lecluse, Y., White, K. L. M., Fisher, J., Lebaillly, P. (2010) Determinants of urinary deoxynivalenol and de-epoxy deoxynivalenol in male farmers from Normandy, France. *J. Agric. Food. Chem.*, 58. 5206–5212. DOI: [10.1021/jf100892v](https://doi.org/10.1021/jf100892v)
- Wallin, S., Hardie, L. J., Kotova, N., Lemming, E. W., Nalsen, C., Ridefelt, P., Turner, P. C., White, K. L. M., Olsen, M. (2013) Biomonitoring study of deoxynivalenol exposure and association with typical cereal consumption in Swedish adults. *World Mycotoxin J.*, 6. 439–448. DOI: [10.3920/wmj2013.1581](https://doi.org/10.3920/wmj2013.1581)
- Warth, B., Sulyok, M., Fruhmann, P., Berthiller, F., Schuhmacher, R., Hametner, C., Adam, G., Frohlich, J., Krska, R. (2012) Assessment of human deoxynivalenol exposure using an LC–MS/MS based biomarker method. *Toxicol. Lett.*, 211. 85–90. DOI: [10.1016/j.toxlet.2012.02.023](https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.02.023)
- World Health Organization (2016) 10 facts on food safety. http://www.who.int/features/fact-files/food_safety/en/



A pre- és probiotikumok használatának szabályozása az Európai Unióban és a világ más országaiban

Tóth Szandra*

Kaposvári Egyetem Agrár- és Környezettudományi Kar,
Mikotoxinok az Élelmiszerláncban Kutatócsoport, 7400 Kaposvár, Guba S. u. 40.

ABSTRACT - Regulation of the use of pre- and probiotics in the European Union and in other countries of the world

Author(s): Szandra Tóth

Affiliation(s): Kaposvár University Faculty of Agricultural and Environmental Sciences, Mycotoxins in the Food Chain Research Group, 7400 Kaposvár, Guba S. street 40., Hungary

It was sixteen years ago that recommendations and guidelines were worked out by the FAO/WHO about pre- and probiotics for professionals, industry and consumers (*Pineiro and Ben Embarek*, 2006). In the developed countries, conscious nutrition, health preservation and disease prevention are increasingly emphasized. In Regulation (EC) No 1831/2003 in the EU has forbidden the use of antibiotics in animal feed as a stimulant for growth. As a result of this decision, the research of health-preserving, disease-preventing products developed rapidly both in the food and feed industries. In order to avoid misuse of prebiotic and probiotic terms, it is necessary to regulate precisely the description of the products. Regulation (EU) 258/97/EC of the European Parliament and of the Council is the first time that the concept of novel foods and food ingredients was introduced. This is the regulation that for the time deals with the introduction of microorganism as food ingredient into the food chain. Pre- and probiotics are present in the food and feed industry due to their beneficial effects on the body, so the regulation of the two areas in many cases merges. A good example is Regulation (EC) 178/2002 of the European Parliament and of the Council, which provides both food, feed, safety conditions and also human and veterinary aspects. Food safety is an important issue for all countries in the world. Every country have an authority to made regulation within this important area, for example the EFSA in EU, the GRAS qualification in USA, the FOSHU category in Japan and the food safety regulation system in Canada. The ISAPP is an international scientific committee, who make guidelines about the usage of pre- and probiotics. This work provides insight to the EU's and other countries' food law regulations.

Keywords: EFSA, food law, prebiotics, probiotics

ÖSSZEFOGLALÁS

Tizenhat éve születtek meg a szakemberek, az ipar és a fogyasztók számára a FAO/WHO által készített ajánlások és irányelvek a pre- és probiotikumokról (*Pineiro és Ben Embarek*, 2006). Mindemellett a fejlett országokban egyre nagyobb társadalmi hangsúlyt kap a tudatos táplálkozás, az egészségmegőrzés és a betegségmegelőzés. Továbbá a 1831/2003/EK európai parlamenti és tanácsi rendeletben a Tudományos Operatív Bizottság betiltotta az antibiotikumok

*CORRESPONDING AUTHOR

Kaposvári Egyetem, Agrár – és Környezettudományi Kar

✉ 7400 Kaposvár, Guba S. u. 40., ☎ +36-82-505-800

E-mail: toth.szandra@ke.hu

hozamfokozó céllal történő felhasználását a takarmányokban. A döntés hatására rohamos fejlődésnek indult az antibiotikum kiváltására szolgáló, egészségmegőrző, betegség megelőző hatással bíró készítmények kutatása az élelmiszer- és takarmányiparban egyaránt. A prebiotikus és probiotikus fogalommal való visszaélés elkerülésének érdekében pontos szabályozásra van szükség a termékek leírására vonatkozóan. Az (EU) 258/97/EK európai parlamenti és tanácsi rendeletben jelenik meg első alkalommal az új élelmiszer és az új élelmiszer-összetevő fogalma. Ez a rendelet az, amely első ízben foglalkozik a mikroorganizmusok, mint élelmiszeralkotók élelmiszerláncba kerülésével. A pre- és probiotikumok a szervezetre gyakorolt jótékony hatásuknak köszönhetően jelen vannak az élelmiszer- és takarmányiparban egyaránt, így a két terület szabályozása sok esetben összeolvad. Erre jó példa a 178/2002/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet, amely egyaránt rendelkezik az élelmiszerellátásról, takarmányozásról, ezek biztonsági feltételeiről valamint humán és állategészségügyi aspektusokról. Az élelmiszerbiztonság a világ minden országában fontos tényező. Minden ország rendelkezik olyan hatósággal, amelynek feladata az ide vonatkozó szabályok megteremtése, betartatása, felülvizsgálata. Az EU-ban az EFSA által hozott rendeletek, az USA-ban a GRAS minősítés, Japánban a FOSHU kategóriára vonatkozó rendelkezések, míg Kanadában az élelmiszereket érintő biztonsági értékelési rendszer. Az International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) pedig egy olyan nemzetközi tudományos társaság, amely segít a pre- és probiotikumok használatára vonatkozó tudományos szakvélemények megalkotásában. Jelen áttekintés segít bepillantást nyerni az EU és más országok élelmiszer- és takarmányjogi szabályozásának rendszerébe és azok kialakulásába.

(*Kulcsszavak:* EFSA, élelmiszerjog, prebiotikum, probiotikum)

BEVEZETÉS

A pre- és probiotikumok a táplálkozástudomány fejlődésével, az egészséges életmód előtérbe kerülésével jelentek meg a köztudatban és kapnak folyamatosan növekvő szerepet, létezésük nem új keletű a tudomány számára. A modern orvostudomány megalapítójától, a görög Hipokratésztől származik a mondás, miszerint: „Minden betegség a bélből ered”. A mikroorganizmusok felfedezését a holland Antonie van Leeuwenhoeknak tulajdonítják, aki az 1600-as évek második felében elsőként nemcsak megfigyelt, hanem le is írt mikroorganizmusokat. Saját készítésű mikroszkópja segítségével felfedezte a szájüregben élő mikrobákat és ezzel a mikrobiológiai kutatások atyjává vált. A

19. században az orosz származású Nobel-díjas biológusnak Ilja Mecsnyikovnak sikerült bizonyítania, hogy a bél mikroflórája szoros összefüggésben áll az egyén élethosszával. Leghíresebb mondata is ebből az időből származik: „A halál a vastagbélben kezdődik”. Miután megszületett a felismerés, miszerint az emésztőtraktusban található mikrobióta sejtek nem csupán az emésztés során elpusztult sejtalkotók, előtérbe kerültek a pre- és probiotikumok fontosságára irányuló kutatások (Floch és mtsai, 2018). Mecsnyikov írt elsőként joghurtban található tejsavbaktériumról, amit *Lactobacillus bulgaricus*nak nevezett el. A probiotikum szót mai értelmében vett kifejezésként először R. B. Parker használta (Parker, 1974). Probiotikumok azok az élő mikroorganizmusok, amelyek a bélrendszer mikrobióta egyensúlyáért felelősek, ellenállnak a gyomorsav, az epe, a nyál, a hasnyálmirigy és a bélnedvek emésztőenzimeinek, nem sérülnek az élelmiszer előállításban alkalmazottgyártástechnológiai eljárások során sem. A leggyakrabban előforduló probiotikus baktériumok a *Lactobacillus* és a *Bifidobacterium* törzsekbe tartoznak.

A prebiotikum szó a görög *pre* és *bios* szavak összeolvadásából keletkezett mozaikszó, amelynek jelentése 'életért'. Az elnevezés találó, hiszen a prebiotikumok a fent említett mikroorganizmusoknak jelentenek kizárólagos táplálékot, mivel a vékonybélben nem emésztődnek, így változás nélkül jutnak el a vastagbélbe, hogy ott táplálékul szolgáljanak az ott élő probiotikus törzseknek, elősegítve ezzel azok szaporodását. Ide tartoznak a nem keményítő eredetű poliszacharidok (NSP), mint a cellulóz, hemicellulóz, gumi, pektin, valamint az oligoszacharidok, mint például az inulin. A legújabb kutatási eredmények szerint, a bélnyálkahártya felszínén élő bélflóra az alábbi élettani funkciókban nélkülözhetetlen: táplálék emésztése és tápanyag felszívódás, patogénnel szembeni küzdelem, méregtelenítés, immunrendszer működése, enzimek, vitaminok és neurotranszmitterek termelése, endokrin rendszerre kifejtett hatás, gyulladáshoz vezető folyamatok mérséklése (Loveren és mtsai, 2012; Hill és mtsai, 2014; Perlmutter és Loberg, 2017)

A fejlett országokban egyre nagyobb társadalmi hangsúlyt kap a tudatos táplálkozás, az egészségmegőrzés és betegségmegelőzés. Az antibiotikum rezisztencia kialakulásának növekvő veszélye miatt a 1831/2003/EK európai parlamenti és tanácsi rendeletben a Tudományos Operatív Bizottság betiltotta az antibiotikumok hozamfokozó céllal történő felhasználását a takarmányokban. A döntés hatására rohamos fejlődésnek indultak az antibiotikum kiváltására szolgáló, kedvező élettani hatással bíró anyagok kutatása. Ebbe az irányvonalba jól beilleszthetőek a pre- és probiotikumok. Hangsúlyozni kell azon-

ban, hogy ezeknek a kiegészítő- és adalékanyagoknak jó része már az antibiotikum használat korlátozása előtt is forgalomban volt, de szerepük az élelmiszeripari trendekben bekövetkező változások miatt felértékelődött. Sajnálatos módon a probiotikus fogalommal való visszaélés szintén jelentős kérdéssé vált, mivel sok termék esetében használták a kifejezést anélkül, hogy azok megfelelték volna a szükséges kritériumoknak (Hill és mtsai, 2014). Az élelmiszerbiztonság a világ minden országában fontos tényező. Minden ország rendelkezik olyan hatósággal, amelynek feladata az ide vonatkozó szabályok megteremtése, betartatása, felülvizsgálata. A pre- és probiotikumok a szervezetre gyakorolt jótékony hatásuknak köszönhetően jelen vannak az élelmiszer- és takarmányiparban egyaránt. Mivel a takarmányipar jellemzően élelmiszer előállítás céljából tartott állatok etetésére szánt termékek előállításával foglalkozik, a két terület szabályozása sok esetben összeolvad.

Jelen áttekintés segít bepillantást nyerni elsősorban az EU-tagállamok, illetve más országok élelmiszer- és takarmányjogi szabályozásának rendszerébe és azok kialakulásába.

AZ EURÓPAI UNIÓ JOGALKOTÁSA

Egyes szakpolitikai területeket az EU és a tagállamok közösen szabályoznak. De a tagállamok csak abban az esetben hozhatnak törvényeket, ha az EU nem szabályozta az adott területet, illetve úgy határozott, hogy nem kívánja szabályozni azt. A megosztott hatáskörbe tartozó területek közé tartozik a mezőgazdaság, a környezetvédelem, a fogyasztóvédelem, a kutatás és a közegészségügy is. A pre- és probiotikumok piaci megjelenésének, takarmányozási vagy humán célú felhasználásának szabályozásában legnagyobb szerepe az élelmiszerbiztonsággal kapcsolatos rendelkezéseknek van. Ezek együttes érdeke a közös piac fogyasztóinak védelme, egységes tájékoztatása, a piaci szereplők egyenlő versenyhelyzetének biztosítása.

Az élelmiszerekre vonatkozó jogi szabályozások.

Az (EU) 89/107/EGK európai parlamenti és tanácsi irányelvben megfogalmazta aggályait az élelmiszeradalék anyagok közös szabályozásának a hiányával kapcsolatban. Előterjesztette az ide vonatkozó anyagok nemzeti szabályozásainak közelítését, amelynek célja, az EU piaci szereplőinek egységesítése minden tagállamban. Bár ebben az irányelvben még nem szerepelnek a pre- és probiotikumok mint élelmiszeradalék anyagok, a dokumentum fontos lépést jelent a későbbi szabályozási rendszerek kialakulásában. Az irányelvet a 2010-

ben megjelent, az (EU) 1333/2008/EK Élelmiszer adalékanyagokról szóló európai parlamenti és tanácsi rendelete helyezte hatályon kívül. Az új rendelet pontos iránymutatást nyújt az adalékanyagok csoportosításáról, illetve fogalom meghatározásáról. Azonban kijelenti, hogy az inulin és az oligoszacharidok nem tartoznak az adalékanyagok közé. Ezzel lényegében a prebiotikumokat kizárja az élelmiszeradalék-anyagok és az ide vonatkozó jogszabályok sorából.

Az EU élelmiszerellátásról, takarmányozásról, az ezek biztonságát megteremtő feltételekről és az ide vonatkozó humán és állategészségügyi aspektusokról szóló jelenleg hatályos alapvető rendelkezései az (EU) 178/2002/EK európai parlamenti és tanácsi rendeletben olvashatóak. A rendelet szerint a tapasztalatok azt mutatják, hogy szükség van olyan intézkedések bevezetésére, amelyek garantálják, hogy a nem biztonságos élelmiszerek ne kerülhessenek a piacra, és biztosítják, hogy legyenek olyan rendszerek, amelyek felismerik az élelmiszerbiztonsági problémákat és a belső piac megfelelő működése, illetve az emberi egészség védelme érdekében megteszik az ellenintézkedéseket.

A takarmánybiztonsággal kapcsolatos hasonló problémákat is meg kellett oldani. Ezért az (EU) 178/2002/EK rendeletben az EU létrehozta az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóságot (EFSA), amely az élelmiszerek és a takarmányok tudományos ellenőrzéséhez és értékeléséhez nyújt támogatást, rendelkezik az élelmiszerjog általános elveiről és követelményeiről valamint az élelmiszerbiztonságra vonatkozó eljárások megállapításáról. Az EFSA, az Európai Bizottság és a tagállamok együttműködnek, annak érdekében, hogy elősegítsék a kockázatértékelés, a kockázatelemzés és a kockázati kommunikáció tényleges egységének megteremtését. Az EFSA feladata továbbá tudományos szakvélemények készítése állat-egészségügyi, állatvédelmi és növény-egészségügyi kérdésekben. Az EFSA hatásköre magában foglalja jogelődjének, az (EU) 93/5/EGK tanácsi irányelve által életre hívott Élelmiszerügyi Tudományos Bizottságnak munkáját, így az, az (EU) 2004/210/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet értelmében megszűnik. Az Európai Bizottság (2001) szerint az (EU) 178/2002/EK rendelet az alapja egy átfogó, integrált megközelítésnek az élelmiszer-ellátási lánc szabályozásában. Ebben a rendeletben jelenik meg első alkalommal a „szántóföldtől az asztalig” névvel illetett koncepció, amely magában foglalja a nyomonkövethetőséget, az átláthatóságot és a biztonságot. Az egészségre és a táplálkozásra vonatkozó állításokról szóló rendeletek célja annak biztosítása, hogy a fogyasztókat ne tévesszék meg az élelmi-

szertermékekre vonatkozó, megalapozatlan, eltúlzott vagy valótlan állításokkal (Loveren és mtsai, 2012). A jelenlegi jogszabályok értelmében a fogyasztóknak megfelelő tájékoztatást kell kapniuk az általuk választott élelmiszerről. Ez a megközelítés az egészségesebb életmóddal kapcsolatos kampányhoz, valamint a Bizottság fogyasztóvédelmi célkitűzéseivel kapcsolódik (Loveren és mtsai, 2012). Az (EU) 178/2002/EK rendelet határozza meg az élelmiszerjog fogalmát is, amely a következő: általában az élelmiszerekre és különösen az élelmiszerek biztonságára vonatkozó, a Közösségben vagy az egyes tagállamokban elfogadott törvények, rendeletek és közigazgatási rendelkezések. Az élelmiszerjog fogalma vonatkozik az élelmiszerek, valamint az élelmiszertermelés céljára tenyésztett állatok takarmányozására használt takarmány termelésének, feldolgozásának és forgalmazásának minden szakaszára is. Az (EU) 178/2002/EK rendelet bizonyos aspektusai módosításon és pontosításon estek át a tudomány, a fogyasztói igények, és a technológia fejlődésének köszönhetően.

Fogyasztóvédelem és a termék megjelenés uniós szabályozása

Az (EU) 1924/2006/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet az élelmiszerekkel kapcsolatos, táplálóanyag-összetételre és egészségre vonatkozó állításokkal foglalkozik. Ez a rendelet fontos továbbfejlesztése az (EU) 90/496/EGK tanácsi irányelvnek, amelyet az (EU) 1169/2011/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet hatályon kívül helyezett. A rendelet létrejöttének magyarázata a következő: „Az élelmiszerekben számos olyan tápanyag vagy egyéb anyag – beleértve, de nem kizárólag, a vitaminokat, ásványi anyagokat (beleértve a nyomelemeket is), aminosavakat, esszenciális zsírsavakat, ételmi rostokat, különféle növényi és gyógynövénykivonatokat – fordulhat elő, amelyek táplálkozási vagy élettani hatással bírnak, és ilyen állítás tárgyát képezhetik. Ezért meg kell határozni az élelmiszerekre vonatkozó valamennyi általános elvet annak érdekében, hogy biztosítható legyen a magas szintű fogyasztóvédelem és a fogyasztó megkapja a tények teljes ismeretében történő választáshoz szükséges információkat, valamint hogy biztosítottak legyenek az élelmiszeriparon belüli verseny egyenlő feltételei. Az egyes tagállamokban az élelmiszerek címkézésekor és reklámozása során számos esetben használnak fel olyan állítást, amely nem igazolt, vagy amelyeket illetően pillanatnyilag nincsen kellő tudományos egyetértés. Biztosítani kell, hogy az anyag, amelyre az állítás vonatkozik, valóban rendelkezzen kedvező táplálkozási vagy élettani hatással. Az állítások valóságtartalmának biztosítása érdekében szükséges, hogy az anyag, amelyre az állítás vonatkozik, elegendő mennyiségben legyen jelen a késztermékben. Az

anyagának a szervezet számára hasznosítható formában kell jelen lennie. Ezenfelül – adott esetben – az ésszerűen várható elfogyasztható ételkészítményeknek megfelelő mennyiségben tartalmaznia kell a jelzett táplálkozási és élettani hatást kiváltó anyagot.” Az (EU) 1924/2006/EK rendelet 2. cikkében meghatározza az „egészségre vonatkozó állítás” fogalmát, amely megegyezik bármely olyan állítással, amely kijelenti, sugallja vagy sejteti, hogy adott ételkészítmény, ételkészítménycsoport vagy annak valamely alkotóeleme és az egészség között összefüggés van. Adott ételkészítmény címkézésén vagy reklámján a tápanyagösszetételre és egészségre vonatkozó állításokat csak akkor lehet az európai közösségen belül alkalmazni, ha megfelelnek az (EU) 1924/2006/EK rendelet 3. cikkében foglalt előírásoknak, amelyek a következők:

- nem lehet valótlan, félreérthető vagy megtévesztő;
- nem kelthet kétséget más ételkészítmények biztonságos voltát és/vagy táplálkozásra való alkalmasságát illetően;
- nem ösztönözheti vagy helyeselheti egy adott ételkészítmény túlzott fogyasztását;
- nem jelentheti ki, sugallhatja vagy sejtetheti azt, hogy a kiegyensúlyozott és változatos étrend általában nem biztosítja a tápanyagok megfelelő mennyiségét. A 24. cikk (2) bekezdésében említett eljárással összhangban – figyelembe véve a tagállamokban fennálló sajátos körülményeket – eltéréseket lehet elfogadni – beleértve alkalmazásuk feltételeit is – azon tápanyagok esetében, amelyekből a kiegyensúlyozott és változatos étrend nem biztosítja a megfelelő mennyiséget;
- nem utalhatnak sem szövegesen, sem képi, grafikus vagy szimbolikus ábrázoláson keresztül a testi funkciók olyan változásaira, amelyek a fogyasztóban félelmet kelthetnek, és nem használhatják ki a fogyasztó félelmét;

Ugyanezen rendelet 5. és 6. cikke foglalja össze az egészségre vonatkozó állítások indokoltságát, illetve az erre irányuló tudományos igazolások meglétének biztosítását. A rendelet mellékletében található az ételmirost-forrás és az ételmi rostban gazdag kifejezések pontos definíciója. Az ételmirost-forrás olyan ételkészítmény leírásában alkalmazható, amelyben az ételmirost-tartalom legalább 3g/100g vagy 3g/100 kcal. Ételmi rostban gazdag az az ételkészítmény, amelyben az ételmirost-tartalom ennek a duplája, azaz 6g/100g vagy 6g/100 kcal.

A pre- és probiotikumok megjelenése az EU élelmiszerjogi szabályozásában

Az (EU) 258/97/EK európai parlamenti és tanácsi rendeletben jelenik meg első alkalommal az új élelmiszer és az új élelmiszer-összetevő fogalma. Ez a rendelet az, amely első ízben foglalkozik a mikroorganizmusok, mint élelmiszeralkotók élelmiszerláncba kerülésével. Az EU szabályozás értelmében az újszerű élelmiszer az, amelyet nem használtak 1997. május 15-e előtt. Ez a rendelet egyértelműen meghatározza a szükséges kockázatértékelési lépéseket az új élelmiszerek EU-piacon való bevezetését megelőzően történő engedélyezésre. Ez a szabályozás 2013 decemberében felülvizsgálatra került, majd 2018. január 1-től hatályba lépett a módosításokat tartalmazó (EU) 2015/2283/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet. A változás a 3. országból érkező tradicionális élelmiszerekre, a nanotechnológiára és a kérelmek benyújtására, értékelésére vonatkoznak. A szabályozás értelmében, a tagállam erre felállított bizottsága vagy az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság (EFSA) és az Európai Bizottság adhat értékelést azon élelmiszerekről és összetevőkről, amelyek Európán belüli biztonságos használatáról nem volt leírás 1997 előtt, ezért „újszerű”-nek tekinthetők. A rendeletben rendelkeznek a mikroorganizmusokról: külön kategóriákat kell létrehozni az új vagy szándékosan módosított molekulaszervezettel rendelkező élelmiszerek, az állatokból, növényekből, mikroorganizmusokból, gombákból vagy algákból származó sejt- vagy szövetkultúrából előállított élelmiszerek, a mikroorganizmusokból, gombákból vagy algákból előállított élelmiszerek, valamint az ásványi eredetű anyagból előállított élelmiszerek számára. A rendelet egyúttal megköveteli az élelmiszer vagy összetevő széles körű biztonsági értékelését az EU piacára való átvétel előtt. Az újszerű élelmiszereket és alapanyagokat tartalmazó lista elérhető az Európai Bizottság nyilvántartó hivatalának oldalán, akárcsak a szabályozásra és felhasználásra vonatkozó ajánlások és előírások. A hozzáadott bakteriumokat tartalmazó élelmiszerek szintén „újszerű” élelmiszernek számítanak, amelyekről évente frissülő lista érhető el (QPS, Qualified Presumption of Safety of Micro-Organism in Food and Feed). Ez a lista az Európai Unión belül elérhető és biztonságosnak ítélt mikroorganizmusokat tartalmazza (EFSA, 2013). Új élelmiszer anyagok fejlesztésénél az Európai Új Élelmiszer Szabályzatban leírtaknak megfelelő élelmiszerbiztonsági előírásokat veszik alapul, majd az így készült értékelés alapján az Európai Bizottság hoz döntést az új élelmiszer alapanyag biztonságáról és elfogadásáról (Kumar és mtsai, 2015).

Takarmányozással és takarmány adalékanyagokkal kapcsolatos rendelkezések az EU-ban.

Takarmány összetevőkkel már 1970-ben, az (EU) 70/524/EGK tanácsi irányelv is foglalkozott, ám azóta a szabályok felülvizsgálatára volt szükség. Ennek oka egyrészt az emberi és állati egészség és a környezet nagyobb fokú védelmének biztosítása, másrészt pedig a technológia és a tudomány fejlődése. Az irányelvet az (EU) 1831/2003/EK rendelet sok szempontból frissítette. Végül 2010.09.01-el lépett hatályba a takarmányok forgalomba hozataláról és felhasználásáról szóló jelenleg hatályos (EU) 767/2009/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet, amely hatályon kívül helyezte az (EU) 70/524/EGK irányelvet és módosította az (EU) 1831/2003/EK rendeletet. Az (EU) 767/2009/EK rendelet 13. cikkében foglalkozik a termék jelölő címkéjén lévő állításokkal. Az itt található 1. pont szerint „a takarmány-alapanyag és az összetett takarmány címkézése és kiszerelése felhívhatja a figyelmet egy bizonyos anyag takarmányban való meglétére vagy hiányára, különleges táplálkozási jellemzőkre vagy folyamatra”. Ugyanezen rendelet IV. mellékletének 4. pontjában rendelkezik a mikroorganizmusok csoportjába tartozó takarmány-adalékanyagokra vonatkozó megengedhető felső határról, amely a rendeletben rögzített maximális értékkel egyenértékű. A 8. cikkben a rendelet meghatározza a takarmány-adalékanyag és a kiegészítő takarmány maximális szintjét, amely nem lehet több mint a teljes értékű takarmány esetében rögzített maximális adalékanyag-tartalom százszorosa vagy a kokcidiosztatikum- és hisztomonosztatikum-tartalom ötszöröse. A VI. mellékletben foglaltak szerint a címkén fel kell tüntetni az adalékanyagokat az engedélyezésükre vonatkozó jogszabályban szereplő konkrét nevük, hozzáadott mennyiségük, azonosító számuk, valamint az (EU) 1831/2003/EK rendelet I. melléklete szerinti funkcionális csoportjuk vagy ugyanezen rendelet 6. cikkének (1) bekezdésében említett kategóriájuk megadásával. A „takarmány-adalékanyag”, „előkeverék”, „technológiai segédanyag” és a „napi adag” fogalmak meghatározása is az (EU) 1831/2003/EK rendelet szerint történik. A rendelet I. mellékletében foglaltak szerint 4 csoportba sorolhatóak az adalékanyagok, amely csoportok további alegységekre bonthatóak. A pre-és probiotikumok a 4. csoport b) alcsoportjához tartoznak a következő besorolás szerint.

1. technológiai adalékanyagok,
2. érzékszervi tulajdonságokat javító adalékanyagok,
3. tápértékkel rendelkező adalékanyagok,
4. állattenyésztésben alkalmazott adalékanyagok,

- a. emészthetőséget fokozó anyagok,
- b. bélflóra-stabilizálók: mikroorganizmusok vagy egyéb kémiaileg meghatározott anyagok, amelyek az állatokkal megetetve pozitív hatást gyakorolnak a bélflórára,
- c. a környezetre kedvező hatást gyakorló anyagok,
- d. egyéb állattenyésztésben alkalmazott adalékanyagok.

A III. melléklet kimondja, hogy a mikroorganizmusok esetében a következő adatokat kell feltüntetni a címkézés során:

- a szavatosság lejárat ideje, vagy a gyártás időpontjától számított eltartóhatósági idő,
- a használati utasítás,
- a törzs azonosítási száma, és
- a telepképző egységek száma grammonként.

Az (EU) 1831/2003/EK rendelet kimondja, hogy a takarmány-adalékanyagokról az EFSA-nak kell tudományos értékelést készítenie, ez az alapja a forgalomba helyezésnek. Azon anyagokra, amelyek már rendelkeznek a korábbi, az (EU) 89/107/EGK irányelv alapján elvégzett engedélyezési eljárással, egy egyszerűsített eljárás vonatkozik. A rendelet 22. pontja értelmében létre kell hozni az engedélyezett takarmány-adalékanyagok nyilvántartását, amely termékspecifikus információkat és kimutatási módszereket is tartalmaz. 2000 és 2015 között számos mikroorganizmusokkal foglalkozó végrehajtási rendelet látott napvilágot, ugyanis minden egyes mikroorganizmus minden egyes törzsére különálló engedélyezési eljárás készül, hiszen a probiotikumok különféle törzsei eltérő válaszreakciót idéznek elő a szervezetben még akkor is, ha a generikus nevük ugyanaz az (*Floch és mtsai, 2018*). Ezért a specifikus törzseket megfelelően azonosítani kell. Az engedélyezési eljárások közül van, amelyik határozott és van határozatlan idejű. A határozott idejű rendeleteket 4-10 évente (a határidő lejártával) az EFSA felülvizsgálja és további rendeletben határozza meg a takarmány-adalékanyag használhatóságát. A rendeletek meghatározzák azt is, hogy a takarmányadalék-anyagot mely állatfajokban lehetséges használni. Amennyiben a kutatások úgy ítélik meg, hogy az adott anyag más állatfajok termelésére is pozitív hatással lehet, kérvényezik az adott anyag használhatóságának kiterjesztését. Az EFSA a megfelelő vizsgálatok és kockázatértékelések elvégzése utáni határozatát szintén rendeletben rögzíti. Ennek jó példája az (EU) 1810/2005/EK bizottsági rendelet, amelynek 10-es pontja kimondja, hogy „az *Enterococcus faecium* (NCIMB 11181) mikroorganizmus-

készítmény alkalmazását az (EU) 1333/2004/EK bizottsági rendelet határozatlan időre engedélyezte a borjú és a malac vonatkozásában. Új adatokat nyújtottak be az ezen mikroorganizmus-készítmény engedélyezésének a brojlercsirkére való kiterjesztése iránti kérelem alátámasztása céljából. Az Európai Élelmiszer-biztonsági Hatóság (EFSA) 2005. április 13-án kedvező véleményt nyilvánított az adalékanyag biztonságosságára vonatkozóan, amennyiben azt a brojlercsírke-állatkategóriában és a IV. mellékletben meghatározott feltételek szerint alkalmazzák. A vizsgálat azt mutatja, hogy az (EU) 70/524/EGK irányelv 9 e. cikkének (1) bekezdésében az ilyen engedélyezésre előírt feltételek teljesülnek. Ennek megfelelően ezen mikroorganizmus-készítmény felhasználását a IV. mellékletben meghatározottak szerint ideiglenesen, négy évre engedélyezni kell". Az (EU) 1810/2005/EK rendelet 11-es pontja ugyanilyen okokból kéri az *Enterococcus faecium* (CECT 4515) mikroorganizmus-készítmény alkalmazásának kiterjesztését brojler csirkére. Ebből a példából jól látszik, hogy mind a mikroorganizmusok törzsei, mind a különféle állatfajok egyedi elbírálás alá tartoznak, amelyek nem örök érvényűek, időnkénti felülbírást igényelnek.

SZABÁLYOZÁSI MÓDOK A VILÁG MÁS TÁJAIN

Tizenhét év telt el a pre- és probiotikumok nemzetközileg elfogadott, hivatalos fogalmának megalkotása óta. Tizenhat éve születtek meg a szakemberek, az ipar és a fogyasztók számára a FAO/WHO által készített ajánlások és irányelvek e témában (*Pineiro és Ben Embarek, 2006*).

A probiotikum definíciója szerte a világon ma is a legpontosabb megfogalmazás (*Hill és mtsai, 2014*) vagyis a probiotikum olyan élő mikroorganizmus, amely megfelelő mennyiségben a szervezetbe juttatva pozitívan járul hozzá a gazdaszervezet egészségéhez (*Floch, 2018*). Pontosabb megfogalmazások esetén ezt az állítást *Fuller (1989)* megjegyzésével egészítik ki, miszerint a probiotikumok fokozzák a bél mikrobiális egyensúlyát. A prebiotikumok meghatározásában mai napig *Gibson és Roberfroid (1995)* munkáját tartják alapvetőnek, amely szerint „a prebiotikumok nem emészthető étrendi alkotók, amelyek jótékonyan hatnak a gazdaszervezetre azáltal, hogy szelektíven befolyásolják a bél mikrobiótáinak szaporodását és/vagy aktivitását”. Tudományos közleményekben ezt az állítást *Trowell és mtsai (1985)* megfogalmazásával egészítik ki, amely szerint a prebiotikumok összességében nem keményítő eredetű növényi poliszacharidok, amelyek emberi emésztőenzimek számára emészthetetlenek. Ez egy egyszerű, de jó definíció, és magában foglalja a sejtfal anyagokat, például a cellulózt, a hemicellulózt, a pektint, a lignint, valamint az

intracelluláris poliszacharidokat, például a gumikat és a nyálkákat. Ezek a definíciók nagyon fontosak, hiszen sok vita és félreértés van ezen anyagok körül, éppen ezért fontos ésszen tartani ezen anyagok pontos eredetét és meghatározását (Hill és mtsai, 2014). A Pro- és Prebiotikumok Nemzetközi Tudományos Társasága az ISAPP, egy nemzetközi nonprofit szervezet a pre- és probiotikumok tudományos értékelésének előmozdítására. Működésének szabályozását világszintű tudományos kutatók által vezetett igazgató tanács látja el. Az ipari fejlesztésekben, mint Ipari Tanácsadói Szövetség van jelen. Az ISAPP igyekszik objektív, tudományos egyetértésen alapuló nyilatkozatokat tenni a pre- és probiotikumok témájában, amellyel segíti a nemzeti és nemzetközi szabályozásokat világszerte (Hill és mtsai, 2014). Az ISAPP 2014-es konszenzusi ülésén megfogalmazottak szerint (Hill és mtsai, 2014) meg kell különböztetni azokat az élő mikrobiótákat amelyek segédanyagként vagy hasznos vegyületek anyagaiként használnak, azoktól amelyek elsősorban jótékony egészségügyi hatásokról ismertek. Ez a meghatározás a nem patogén, kommenzalista mikrobióták és a probiotikumok közti különbséget is megadja. Habár, a kommenzalista mikrobióták a bélben szintűgy probiotikus törzsek forrásai, attól még addig, amíg ez a törzs nincs elkülönítve, pontosan meghatározva és jótékony egészségügyi hatása feljegyezve, addig nem nevezhető probiotikumnak. Nyilvánvaló, hogy a probiotikus fogalom különböző értelmezései jelentős előnyökkel járnak a főbb érdekelttek számára. A probiotikumok elterjedésének négy érdekelt csoportja van, amelyek célja is eltérő:

- Tudomány: magas tudományos minőséggel bíró anyag előállítás, felismerése, amely a társadalom javát szolgálja;
- Gyártó: magas minőségű, megtérülő termékek előállítás, amelyek elismert és egyértelmű hatással bírnak;
- Felhasználó: döntéshozatalban segítő információk, hatások leírásának elvárása;
- Szabályozói szervek: fogyasztók védelme a félreinformálástól.

A probiotikumok fejlesztésében és elterjesztésében mind a négy résznek egy közös célon kell dolgozni. Az ISAPP 2014-es ülésén fogalmazta meg aggályait a pre- és probiotikumok piaci szereplésével és szabályozásával kapcsolatban. Ezek szerint a piaci forgalomban nagyon sok termék viseli a probiotikus jelzőt, bár sok esetben ezek leírása nem felel meg a minimum követelményeknek, mint például a pontosan megnevezett probiotikus alkotó, a szavatossági idő végén jelen lévő életképes telepképző egység mennyisége, illetve a fogyasztással járó jótékony egészségügyi hatások felsorolása. Valójában, leginkább tiszta

kommunikációra van szükség a vásárlók és az egészségügy felé, annak érdekében, hogy felismerjék a különbséget a probiotikus termékek között. Ez a feladat nem egyszerű, hiszen a szabályozó hatóságok szigorú előírásokban határozzák meg, mit tartalmazhat a termék leírást tartalmazó címke. Amennyiben a címkére vonatkozó minimális kritériumok teljesülnek, az élelmiszerekben előforduló probiotikus anyagok leírásának szabályozása nem kielégítő az EU országaiban (Hill és mtsai, 2014).

Az Amerikai Egyesült Államokban (USA) a szabályozási folyamatok más gondolkodásmódra épülnek. Míg Európában az engedélyezés feltételezi a teljes bizonyosságot a termék használatának biztonságáról, addig az USA-ban az engedélyezés feltétele, a használat során felmerülő ártalom hiánya. Kumar és mtsai (2015) az újszerű élelmiszerek megjelenéséről és szabályozásáról szóló értekezésükben a következőképpen írtak az USA-ban érvényben lévő szabályozási folyamatokról: „Az Egyesült Államokban az élelmiszerek és az élelmiszer-összetevők szabályozását az Élelmiszer- és kozmetikai törvény (FDCA) szabályozza. Az új és újszerű élelmiszerek biztonságáért az USA-ban elsősorban az élelmiszer előállító felelős. A szabályozás értelmében minden olyan anyag, amelyet szándékosan az élelmiszerhez vagy takarmányhoz kevernek, adalékanyagnak minősül, amelyet az FDA előzetesen felülvizsgált és jóváhagyott, kivéve, ha az az anyag szakképzett szakértők körében általánosan elismert és általuk felhasználásra javasolt. Az USA-ban a pre- és probiotikumokat ugyanúgy szabályozzák, mint az összes többi élelmiszer összetevőt, vagyis a gyártó saját belátása szerint élelmiszer-adalékanyagként vagy úgynevezett „Általánosan Biztonságosnak Tekintett Anyag”-ként (GRAS) hozhatja forgalomba. A GRAS minősítés biztosításához két feltétel szükséges. Az egyik, hogy a biztonságos használatról szóló információk elérhetőek legyenek a tudományos szakértők számára, amely a szakértői vélemény tudományos publikálását jelenti. Másodsorban pedig az anyag biztonságos használatának általános elfogadása szükséges a tudományos közösségekben. Az FDA nem rendelkezik meghatározó előírással a GRAS anyagokról, csupán ajánlást tehet. A GRAS minősítést létrehozó törvény (FDCA, 1958-Az Élelmiszer Adalékok Módosításáról) kifejezetten kizárta az FDA-t az ilyen típusú adalékanyagok élelmiszer-ellátásban történő megjelenésének szabályozásából. A GRAS státus felállítását tehát szakképzett tudósok végzik, akik véleménye alapján a rendeltetésszerű használat során a termék biztonságosnak tekinthető. A probiotikumokat nagyon régóta használják az élelmezés során táplálék-kiegészítőként. Amennyiben az élelmiszer előállítása során az alapanyag vagy a technológiai eljárás tartalmaz

mikroorganizmusokat, azt nem kell külön táplálék-kiegészítőként kezelni. Tehát az új probiotikumok piaci érvényesüléséhez előbb meg kell szerezni a GRAS engedélyt, hogy lehetőséget kapjanak az élelmiszerekben történő megjelenéshez, majd ezt követően lehet őket táplálék-kiegészítőként szélesebb körben alkalmazni.”

Japánban a pro-és prebiotikumok jogszabályban rögzített kategorizálása az EU-ban és USA-ban megfigyelt gyakorlattól szélesebb körű. Az élelmiszerek és takarmányozásra szánt anyagok a következő három csoport valamelyikébe tartoznak (*Kumar és mtsai, 2015*):

- speciális táplálkozási célokat kielégítő élelmiszerek: a terhes nőkre, csecsemőkre és diszfágiában szenvedőkre terápiásan ható élelmiszerek;
- speciális egészségügyi hatással bíró élelmiszerek (Foods for Specified Health Uses, FOSHU): ezek a termékek betegség csökkentő hatással bírnak;
- étrendi hatással bíró összetevők.

A FOSHU kategória a következő megállapításokkal bír:

- Aktívan befolyásolják a test fiziológias folyamatait és biológiai aktivitását.
- Napi használatukkal a kívánatos egészségügyi hatás elérhető.
- Egyedi értékelés alá tartozó élelmiszer termékek, amelyek rendelkeznek a megfelelő biztonsággal, minőséggel, érvényességgel valamint a kormányzat által elfogadottak.

Kanadában az élelmiszer- és takarmány előállítóknak és importőröknek az úgynevezett „adatszolgáltatás az egészséges Kanadáért” információs rendszeren keresztül kell engedélyeztetni a termék forgalmazását. Ez egy biztonsági értékelési rendszer részét képezi. A mikroorganizmust tartalmazó termékekről tanulmányt kell benyújtani a forgalomba hozatal előtt, amelyben ki kell térni az előállításra, a genetikai háttérre és a felhasználás mikéntjére (*Kumar és mtsai, 2015*). A természetes terápiás anyagokat a gyógyhatású élelmiszerekről és a gyógyszerek szabályozásáról szóló rendelet határozza meg. Kanadában a probiotikumokat jelenleg a természetes egészséghez hozzájáruló anyagok között tartják számon, amely megállapítás a probiotikumokról szóló tanulmányokon alapul.

KÖVETKEZTETÉSEK

A prebiotikumok használatának általános előnye, hogy a bél mikrobióták számára kedvezőbb bélkörnyezet kialakulását eredményezik, amelyek a probiotikus mechanizmusok révén jótékony hatással vannak a gazdaszervezet egészségére. Két általános értelemben vett kedvező hatás az egészséges emésztő csatorna, illetve az egészséges immunrendszer. Mindezen tulajdonságok okán kerültek ezek az anyagok előtérbe amikor az antibiotikumok betiltásra kerültek valamint az egészségtudatos táplálkozás szerepe a társadalomban felerősödött. Ez a változás magával hozta az élelmiszerjog és szabályozás fejlődését. Az ISAPP objektív, tudományos munkával segít nemzetközi szintű értékelést adni ezekről az anyagokról. A pre- és probiotikumok bevezetésére vonatkozó szabályozások földrajzi régióként eltérőek. Mivel a pre- és probiotikumok az élelmiszeriparban és takarmányiparban egyaránt jelen vannak, szabályozásuk sok esetben összemosisdik. Az EU-ban az EFSA által hozott rendeletek, az USA-ban a GRAS minősítés, Japánban a FOSHU kategóriára vonatkozó rendelkezések, míg Kanadában az élelmiszereket érintő biztonsági értékelési rendszer egytől egyig a fogyasztók védelmét, és az egységes kereskedelmi szabályoknak való megfelelést szolgálják. Mindegyik országban az élelmiszer és takarmány adalékanyagok megítélésében és engedélyezésében nagy szerepe van a tudományos társaságok értékelésének. Az ISAPP véleménye szerint a jól beállított kísérletek, a rendszeres felülvizsgálatok és a meta analízisek meggyőző bizonyítékot szolgáltatnak a probiotikumok előnyeiről, beleértve azokat is, amelyek értékes közegészségügyi következményekkel járnak (Hill és mtsai, 2014). Ezeket az értékeléseket és az ezek alapján hozott törvényi előírásokat meghatározott időnként felülvizsgálják és módosítják a tudomány és a fogyasztói igények fejlődésével megegyezően.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A publikáció elkészítését az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005 számú projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

IRODALOM

- Floch M. H. (2018) The role of prebiotics and probiotics in gastrointestinal disease, *Gastroenterol Clin N* 47 1 179-191 DOI: [10.1016/j.gtc.2017.09.011](https://doi.org/10.1016/j.gtc.2017.09.011)
- Fuller R. (1989) Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol.* 66. 365-378
- Gibson C. R., Roberfroid M. B. (1995) Dietary modulation of human colonic microflora: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr* 125. 401

- Hill C., Guarner F., Reid G., Gibson R. G., Merenstein J. D., Pot B., Morelli L., Canani R. B., Flint H. J., Smlinen S., Calder P. C., Sanders M. E. (2014) The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastro Hepat* 11. 506-514 DOI: [10.1038/nrgastro.2014.66](https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66)
- Kumar H., Salminen S., Verhagen H., Rowland I., Heimbach J., Banares S., Young T., Nomoto K., Lalonde M. (2015) Novel probiotics and prebiotics: road to the market. *Curr Opin Biotech* 32. 99-103 DOI: [10.1016/j.copbio.2014.11.021](https://doi.org/10.1016/j.copbio.2014.11.021)
- Loveren H., Sanz Y., Salminen S. (2012) Health claims in europe: probiotics and prebiotics as case examples. *Annu Rev Food Sci T3*. 247-261. DOI: [10.1146/annurev-food-022811-101206](https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101206)
- Ojansivu I., Ferreira C. L., Salminen S., (2011) Yacon, a newsource of prebiotic oligosaccharide swith a history of safeuse. *Trends Food Sci Tech* 22. 40-46. DOI: [10.1016/j.tifs.2010.11.005](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.11.005)
- Parker R. B. (1974) Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Animal Nutrition and Health* 29, 4-8
- Perlmutter D., Loberg K. (2017) Hogyan gyógyítja és védi agyunkat az egészséges bélflóra-egy életen át. Kossuth Kiadó
- Pineiro M., Ben Embarek P. (2006) Probiotics in food – Health and nutritional properties and guidelines for evaluation, FAO Food and Nutrition Paper 85. ISSN 0254-4725
- Trowell H., Burkitt D., Heaton K. (1985) Dietary fibre, fibre-depleted foods and disease. London: Academic Press
- 70/524/EGK: A Tanács irányelve (1970. november 23.) a takarmány-adalékanyagokról. (HL L 270., 1970.12.14., 1—17.) <http://data.europa.eu/eli/dir/1970/524/oj> Celex: 31970L0524
- 89/107/EGK: A Tanács irányelve (1988. december 21.) az emberi fogyasztásra szánt élelmiszerekben felhasználásra engedélyezett élelmiszer-adalékanyagokra vonatkozó tagállami jogszabályok közéletéséről (HL L 40., 1989.2.11., 27—33.) <http://data.europa.eu/eli/dir/1989/107/oj> Celex: 31989L0107
- 90/496/EGK: A Tanács irányelve (1990. szeptember 24.) az élelmiszerek tápértékjelöléséről (HL L 276, 06/10/1990 0040 – 00494) <http://data.europa.eu/eli/dir/1990/496/oj> Celex: 31990L0496
- 93/5/EGK: A Tanács 93/5/EGK irányelve (1993. február 25.) az élelmiszerekre vonatkozó kérdések tudományos vizsgálatában a tagállamok által a Bizottságnak nyújtott támogatásról és a tagállamok együttműködéséről. (HL L 52., 1993.3.4., 18—21.) <http://data.europa.eu/eli/dir/1993/5/oj> Celex: 31993L0005
- 178/2002/EK: Az Európai Parlament és a Tanács 178/2002/EK rendelete (2002. január 28.) az élelmiszerjog általános elveiről és követelményeiről, az Európai Élelmiszerbiztonsági Hatóság létrehozásáról és az élelmiszerbiztonságra vonatkozó eljárások megállapításáról (HL L 31., 2002.2.1., 1—24.) <http://data.europa.eu/eli/reg/2002/178/oj> Celex: 32002R0178
- 258/97/EK Az Európai Parlament és a Tanács 258/97/EK rendelete (1997. január 27.) az új élelmiszerekről és az új élelmiszer-összetevőkről. (HL L 43., 1997.2.14., 1—6.) <http://data.europa.eu/eli/reg/1997/258/oj> Celex: 31997R0258
- 767/2009/EK: Az Európai Parlament és a Tanács 767/2009/EK rendelete (2009. július 13.) a takarmányok forgalomba hozataláról és felhasználásáról, az 1831/2003/EK rendelet módosításáról, valamint a 79/373/EGK tanácsi irányelv, a 80/511/EGK bizottsági irányelv, a 82/471/EGK, 83/228/EGK, 93/74/EGK, 93/113/EK és 96/25/EK tanácsi irányelv és a 2004/217/EK bizottsági határozat hatályon kívül helyezéséről (EGT-vonatkozású szöveg) (HLL 229., 2009.9.1., 1—28.) <http://data.europa.eu/eli/reg/2009/767/oj> Celex: 32009R0767
- 1169/2011/EK: Az Európai Parlament és a Tanács 1169/2011/EU rendelete (2011. október 25.) a fogyasztók élelmiszerekkel kapcsolatos tájékoztatásáról, az 1924/2006/EK és az 1925/2006/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet módosításáról és a 87/250/EGK bizottsági irányelv, a 90/496/EGK tanácsi irányelv, az 1999/10/EK bizottsági irányelv, a 2000/13/EK európai parlamenti és tanácsi irányelv, a 2002/67/EK és a 2008/5/EK bizottsági irányelv és a 608/2004/EK

- bizottsági rendelet hatályon kívül helyezéséről (EGT-vonatkozású szöveg) (HL L 304., 2011.11.22., 18—63.) <http://data.europa.eu/eli/reg/2011/1169/oj> Celex:32011R1169
- 1333/2008/EK: Az Európai Parlament és a Tanács 1333/2008/EK rendelete (2008. december 16.) az élelmiszer-adalékanyagokról (EGT-vonatkozású szöveg) (HL L 354., 2008.12.31., 16—33.) <http://data.europa.eu/eli/reg/2008/1333/oj> Celex:32008R1333
- 1810/2005/EK: A Bizottság 1810/2005/EK rendelete (2005. november 4.) egy takarmány-adalékanyag tíz évre szóló új engedélyezéséről, egyes takarmány-adalékanyagok végleges engedélyezéséről és egyes, már engedélyezett takarmány-adalékanyagok új alkalmazásának ideiglenes engedélyezéséről (EGT vonatkozású szöveg) (HL L 291., 2005.11.5., 5—11.) <http://data.europa.eu/eli/reg/2005/1810/oj> Celex: 32005R1810
- 1831/2003/EK: Az Európai Parlament és a Tanács (EU) 1831/2003/EK rendelete (2003. szeptember 22.) a takarmányozási célra felhasznált adalékanyagokról (EGT vonatkozású szöveg) (HL L 268., 2003.10.18., 29—43.) <http://data.europa.eu/eli/reg/2003/1831/oj> Celex: 32003R1831
- 1924/2006/EK: Az Európai Parlament és a Tanács 1924/2006/EK rendelete (2006. december 20.) az élelmiszerekkel kapcsolatos, tápanyag-összetételre és egészségre vonatkozó állításokról (HL L 404., 2006.12.30., 9—25.) <http://data.europa.eu/eli/reg/2006/1924/oj> Celex: 32006R1924
- 2004/210/EK: 2004/210/EC: Commission Decision of 3 March 2004 setting up Scientific Committees in the field of consumer safety, public health and the environment (Text with EEA relevance). (HL L 66., 2004.3.4., 45—50.) <http://data.europa.eu/eli/dec/2004/210/oj> Celex: 32004D0210
- 2015/2283/EK: Az Európai Parlament és a Tanács (EU) 2015/2283 rendelete (2015. november 25.) az új élelmiszerekről, az 1169/2011/EU európai parlamenti és tanácsi rendelet módosításáról, valamint a 258/97/EK európai parlamenti és tanácsi rendelet és az 1852/2001/EK bizottsági rendelet hatályon kívül helyezéséről (EGT-vonatkozású szöveg) (HL L 327., 2015.12.11., 1—22.) <http://data.europa.eu/eli/reg/2015/2283/oj> Celex: 32015R2283