

MIKOTOXIN VIZSGÁLATOK ASPERGILLUS FAJOKKAL

RIGÓ Krisztina, VARGA János, TÉREN József és SZABÓ Gábor

SZTE Szegedi Élelmiszeripari Főiskolai Kar
6724. Szeged, Mars tér 7.
Tel./Fax: 62/546-024
E-mail: christa@bibl.szef.u-szeged.hu

ÖSSZEFOGLALÓ

Az élelmiszerek ochratoxin szennyezettségének előfordulása az utóbbi néhány évtizedben világméretű problémává vált, hiszen komoly egészségügyi problémát jelent mind humán, mind állategészségügyi szempontból. Az ochratoxinok a különböző Aspergillus és Penicillium fajok másodlagos anyagcseretermékei, amik nefrotoxikus, teratogén, immunszuppresszív és karcinogén hatással rendelkeznek. Az ochratoxin gyakran fordul elő gabonaféléken, más növényi és állati eredetű termékeken egyaránt. Az alábbi beszámoló az ochratoxin A bioszintézisének, metabolizmusának, hatásmechanizmusának és a termelés molekuláris genetikai hátterének vizsgálatával foglalkozik. Az élelmiszerek ochratoxin A szennyezettségének megállapítására különböző módszerek kerültek alkalmazásra.

1. Irodalmi áttekintés

A mikotoxinok elsősorban "penészgombák" extracellulárisan kiválasztódó, többnyire másodlagos anyagcseretermékei, melyek az embert és haszonállatait többnyire enterálisan károsítják. Ez a magasabbrendű eukariótákhoz kötődő meghatározás azonban nem zárja ki az alacsonyabbrendű élőlényekre gyakorolt hatást, amit toxin kimutatási és mérési módszerként alkalmazhatnak. Kémiai szerkezetük, bioszintézisük módja, a termelő szervezet típusa és a magasabbrendűekre gyakorolt farmakológiai hatásmechanizmusuk rendkívül eltérő lehet, ezen szempontok alapján oszthatóak további alcsoportokra. A mikotoxinok nagy része acetil-KoA és malonil –KoA kondenzációjából vezethető le, ezzel szemben az ún. mevalonát anyagcsereútból származtatható szekszvitertipén típusú mikotoxinok kémiaileg egy másik jól körülhatárolható csoportot alkotnak. Az aminosavakból származtatható toxinok csoportja heterogén, mivel N-heterociklusos vegyületeket és ciklusos polipeptideket is tartalmaz.

A mikotoxinok ösödök óta okoznak megbetegedéseket, söt nagy közösségek kipszutulásáért is felelössé tehetök. A betegségek elnevezésüket a kiváltó élelmiszer (pl. sárgarizs), a tünetek (pl. ittas kenyér, hepatitisz), a leírójuk neve

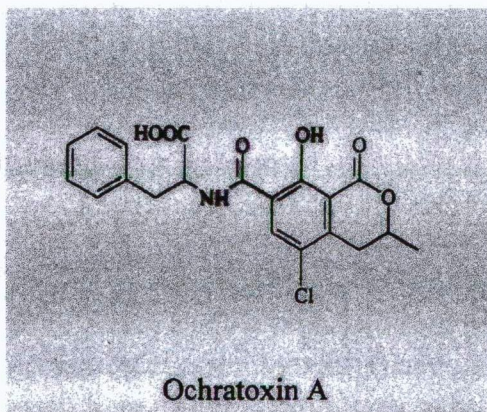
vagy a földrajzi előfordulásuk alapján kapták. A korábban leírt mikotoxikózisok pontos eredete nem mindig vált később ismertté, részben a korabeli leírások eltérő nyelvezete és szempontjai miatt, másrészt, mert az állatkísérletekben a leggyakrabban tiszta toxinokat alkalmaznak, míg a gyakorlatban vegyes mikroflóra fordul elő és ez általában változó összetételű toxin-elegyet eredményez.

Mikotoxintermelő penészgomba fajok előfordulhatnak a legkülönbözőbb élelmiszerekben, mint pl. a tejtermékben, húsban, tojásban, állati és növényi zsíradékban, lisztben, olajos magvakban, gyümölcsökben, zöldségfélékben, italokban. A rendszertanilag egymástól távol eső fajok gyakran ugyanazt vagy kémiai szerkezetében rokon vegyületeket termelnek, más esetekben az egymással közeli rokonságban lévő fajok teljesen különböző mikotoxinokat állítanak elő. A mikotoxinokkal kapcsolatos részletes vizsgálatok lényegében az 1960-as években kezdődtek, amikor is Angliában egy rejtélyes megbetegedés pusztított a pulykák között, ami több mint százezer állat elhullását eredményezte. A post mortem vizsgálatok máj haemorrhagiát és nekrotikus májkárosodást mutattak. A mikrobiológiai vizsgálatok során nem sikerült patogén mikroorganizmust kitenyészteni. A kromatográfiás tisztítás során kikristályosítottak egy anyagot, ami UV fényben fluoreszcenciát mutatott, ezzel egy időben az erősen mérgező hatásúnak mutatkozó földimogyoró tétélekből pedig egy fonalgombát sikerült izolálni, amely szintetikus táptalajon is termelte a toxikus anyagot. A gombát *Aspergillus flavus*-nak identifikálták, a mérgező anyag pedig az aflatoxin nevet kapta. (Ma már tudjuk, hogy valójában ezt az óriási pusztulást nem is az aflatoxin, hanem egy másik, szintén az *A. flavus* által termelt erősen toxikus hatású vegyület, a ciklopiazonsav okozta). Az azóta eltelt néhány évtizedben mikotoxinok és a termelő szervezetek felfedezése és azonosítása érdekében szisztematikus vizsgálat folyt. Ennek eredményeként jó néhány, a penészgombák által termelt mérgező anyag jelenlétére derült fény. Nefrotoxikus hatású vegyületeket izoláltak gabonafélékről, Japánban a rizsről ("sárga rizs"), kiderült hogy *Penicillium citrinum* a termelő szervezet és a gomba után citrininnek nevezték el. Számos *Aspergillus* és *Penicillium* faj szűrletéből izoláltak különböző nevenek egy vegyületet, ami ma már patulin néven található a szakirodalomban, és gyümölcslevekben gyakran nagy mennyiségben kimutatható. A gabonafélék közismert kártevői évről évre súlyos gazdasági veszteségeket okoznak jelenlétükkel, illetve toxintermelésükkel. A különböző *Fusarium* (*F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. moniliforme*, *F. sporotrichoides* etc.) fajok különböző toxinokat termelnek, mint pl. DON, nivalenol, zearalenon. Néhány mikotoxin, a termelő mikroorganizmus illetve azok fiziológiai és patológias hatását foglaltam össze szemléltetésül.

A penészgomba anyagcseretermékek szisztematikus vizsgálata során egy *Aspergillus ochraceus* törzs szűrletéből erősen nefrotoxikus és hepatotoxikus vegyületeket izoláltak (van der Merve és mtsi., 1965), melyeket ochratoxinoknak (OA) neveztek el. Az OA nefrotoxikus vegyület, melynek immunszuppresszív, karcinogén és teratogén hatását is kimutatták (Smith és Moss, 1985). Ez a toxin az egyik feltételezett okozója a balkáni endémikus nefropátiának (Krogh és

mtsi., 1977), bár ezt a betegséget újabban számos kutató egyes *Penicillium* metabolitok hatásának tulajdonítja (Macgeorge és Mantle, 1991). Ochratoxinok és egyéb metabolitok (xanthomegnin, viomellein) jelenlétét már korábban is észlelték kávémintákból izolált *A. ochraceus* törzsek esetében (Stack és mtsi., 1983). 1995-ben nagy visszhangot váltott ki, hogy kávéminták esetében $5-10 \mu\text{g kg}^{-1}$ OA-t észleltek. Ennek hatására a FAO és a WHO közös tanácsa (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) új tűréshatárt javasolt (Anonymus, 1995). Számos vizsgálat során bebizonyosodott, hogy a kelet-európai, így többek között a magyar azonnal oldódó kávétermékek általában szennyezettebbek, mint az USA-ban, illetve Európa más területein forgalmazott termékek (Pittet és mtsi., 1996). A Magyarországon megengedett ochratoxin határértékek $15 \mu\text{g kg}^{-1}$ zöld kávé esetében, és $10 \mu\text{g kg}^{-1}$ pörkölt kávé, és egyéb növényi termékek esetében (Magyar Közlöny 1995, 60: 3317). A kávéból és más termékekből az ochratoxinok az emberbe kerülve a vizsgált személyek vérsavójából nagy százalékban kimutathatók (Solti és mtsi., 1997; Tápai és mtsi., 1997).

Az ochratoxinok kémiai szerkezetük alapján egy dihidroizokumarin váz 7. C-atomjához kapcsolódó β -L-fenilalanin vegyületek. Az ochratoxin A ((R)-N-[(5-klór-3,4-dihidro-8-hidroxi-3-metil-1-oxo-1H-2-benzo-pirán-7-il)carbonil]-L-fenilalanin) és észtereiben jellemző a Cl-atom jelenléte (1.ábra). Az ochratoxin A ($\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{ClNO}_6$) színtelen kristályos vegyület, a kevésbé toxikus ochratoxin B-ben a klóratom helyén hidrogén van. Bioszintézisük során a kumarin váz acetát és malonát molekulából áll össze a poliketid bioszintézissel valószínűleg homológ módon, a karboxil csoport a C_1 poolból származik (Turner és Aldridge, 1983). Az ochratoxin A molekula szerkezeti képlete látható az 1. ábrán.



1. ábra. Az ochratoxin A molekula szerkezeti képlete

Az ochratoxinok közül elsősorban a klórtartalmúak akut toxicitása nagy. Hatásuk vesekárosításban, a vesetubulusok nekrozisában nyilvánul meg. Emellett kimutatták teratogén és immunszuppresszív hatásukat is (Smith és Moss, 1985). Számos stabil metabolitjukat (4-hidroxi származékok) azonosították kísérleti állatok vérében, májában és veséjében, így feltételezik, hogy a metabolikus aktivációnak az ochratoxinok toxicitásában fontos szerepe van. Az ochratoxinok biokémiaiilag a Phe-tRNS létrehozásáért felelős enzimet, ezen keresztül a fehérjeszintézist gátolják. Emellett szabadgyökképzést, lipid peroxidációt is indukálnak, így hatással vannak a biológiai membránokra is. Az ochratoxin A és B a prokarióták szaporodását gátolja.

Vizsgálataink során különböző élelmiszerekről izoláltunk ochratoxin termelő *Aspergillus* fajokat, melyek toxintermelő képességét immunkémiai, kémiai analitikai (vékonyréteg kromatográfia (TLC), nagy nyomású folyadékkromatográfia (HPLC) és molekuláris genetikai módszerekkel vizsgáltuk. Az OA termelő fajok közötti filogenetikai rokonsági vizsgálatokat hajtottunk végre molekuláris genetikai módszerrel. Az újonnan izolált és a törzsgyűjteményben meglévő fajokat toxintermelő képességük alapján két nagy csoportra osztottuk. A nagy mennyiségű OA termelő fajok közül kiválasztottunk egy konstitutív termelő fajt és ezzel az OA termelő képesség genetikai hátterének vizsgálatát vizsgáljuk, amelybe bevontuk ezen faj mutánsait is.

3. Anyagok és módszerek

Malátakivonatos tápoldat (MO): 0. 5% maláta kivonat, 0. 5% élesztő kivonat, 1% glükóz.

Pontecorvo minimál tápoldat (PM): 0. 6% NaNO₃, 0. 15% KH₂PO₄, 0. 05% MgSO₄·7H₂O, 0. 05% KCl, 1% glükóz, 0. 1% élesztőkivonat, nyomnyi FeSO₄ és ZnSO₄, és 1 ml/l Wickerham vitaminoldat.

Élesztőkivonat-szaharóz táptalaj (YES): 2% élesztőkivonat, 15% szaharóz.

Diklorán-bengálvörös tartalmú táptalaj (DBR): 0. 5% pepton, 0. 1% KH₂PO₄, 1% glükóz, 0. 05%MgSO₄, 0. 05% (v/v) bengálvörös törzsoldat, 0. 1% (v/v) diklorán törzsoldat, 0. 01% sztreptomycin (King és mtsi., 1979).

Bengálvörös törzsoldat: 5% vizes oldat.

Diklorán törzsoldat: 0. 2% etanolos oldat.

Wickerham vitaminoldat: 0. 01% biotin, 0. 01% piridoxin-HCl, 0. 01% tiamin, 0. 01% riboflavin, 0. 01% p-aminobenzoesav, 0. 01% nikotinsav.

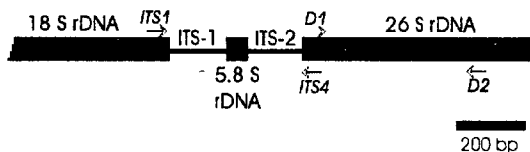
Nukleinsav izolálás (Leach és mtsi., 1986 nyomán, módosítva)

0.2 g liofilizált micéliumot 1.5 ml LETS pufferrel (0.1M LiCl, 10mM Na₂EDTA, 10mM Tris/HCl (pH 8.0), 0.5% SDS) és 0.5 mm átmérőjű üvegyöngyökkel 1-3 percig vortexeltük, majd 1 ml fenol-kloroform-izoamilalkohol 25:24:1 arányú elegyét (PCI) adtuk hozzá, és a vortexelést követően 10 percig 5000 rpm-el centrifugáltuk. A DNS-t 4 ml térfogatnyi etanollal kicsaptuk, 5 perces 5000 rpm-es centrifugálás után a csapadékot vákuumban beszárítottuk, és 0.7 ml TE pufferben vettük fel. Kétszer körülbelül 0.5 ml PCI-vel, majd egyszer kloroform-izoamilalkohol 24:1 arányú elegyével extraháltuk. A vizes fázist Eppendorf csőbe vittük, kétszeres térfogatnyi etanollal kicsaptuk, beszárítottuk, és 100 µl TE-ben felvettük a beszárított DNS-t. A DNS-preparátumokat -20°C-on tároltuk felhasználásig.

Polimeráz láncreakció

Egy genetikai vizsgálathoz kb. 10⁵-10⁶ DNS vagy RNS molekulára van szükség, amit sokszor természetes eredetűen igen nehéz biztosítani. In vitro körülmények között a polimeráz láncreakció segítségével amplifikálhatjuk ("megsokszorozhatjuk") a kívánt nukleinsav szekvenciát. A PCR reakció lényege: az amplifikálandó DNS szekvencia ismételt, ciklikus denaturációja a primerek hibridizációja a minta DNS-hez, valamint a primerek meghosszabbítása DNS polimerázzal. A ciklusok során mindig újabb minta DNS szekvenciák keletkeznek, ezért a reakció exponenciális, 20-40 ciklus után a célszekvencia 10⁶-szoros mennyiségi növekedése érhető el.

Az ochratoxin termelő *Aspergillus* izolátumok filogenetikai analízise elvégezhető egy variábilis nukleinsav szegmens, az ITS (Intergenic Transcribed Region) szegvencia alapján (2. ábra).



2.ábra. Az ITS szekvencia felépítése

Az ochratoxin termelés vizsgálata

A különböző élelmiszerekről izolált *Aspergillus*okat 2 ml YES tápoldatra oltottunk és 10 napig 30 °C-on sötétben inkubáltuk. Az ELISA-val történő vizsgálatokhoz a 2-2 ml tenyészetekhez azonos térfogatú diklórmétánt adtunk, ezzel rázattuk 30 percig. A diklórmétános fázisból háromszoros térfogatú 0.13 M NaHCO₃ (pH 8.3) oldatba vittük át az ochratoxinokat, ebből centrifugálás után 470 µl mennyiséget kivettünk, ehhez 30 µl 1 N sósavat adtunk, ezután vizsgáltuk a Toxikon ochratoxin detektáló ELISA készlettel a gyártó instrukciónak megfelelően (Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, Gödöllő).

Az ELISA vizsgálattal ochratoxin termelőnek bizonyult törzseket mind csészében (15 ml YES táptalaj), mind pedig folyadékban (20 ml YES tápoldat) szaporítottuk. A folyadéktenyészetekből extraháltuk az ochratoxint. Először 5 ml 1 N HCl-t és 40 ml diklórmétánt adtunk a folyadékkultúrához, rázattuk 30 percig. A diklórmétános-fázis elválasztása után dehidratálás céljából vízmentes Na₂SO₄ kristályokon átszűrtük. Bepároltuk 500 µl-re, majd 1-10 µl mennyiséget vékonyrétegre vittünk fel (Kieselgel G 60 fluoreszcens indikátor nélkül, No.5626, E Merck, Darmstadt, Germany). A táptalajról származó mintákkal hasonlóképpen jártunk el. Futtatóelegyként toluol-etilacetát-hangyasav (TEF) 5:4:1 elegyét használtuk. A lemezeket szárítás után 365 nm-es analitikai UV lámpa alatt vizsgáltuk. Azon törzsek esetében, melyek az OA-standarddal azonos R_f érték mellett az OA-jellemző fluoreszcenciát mutattak, az OA konfirmációt elvégeztük a Téren és mtsi (1996) által leírt módszerrel. A megerősítő vizsgálatokat nagynyomású folyadékkromatográfiával végeztük (SYKAM HPLC S 1100, izokratikus pumpa, BST Rutin C18 250 mm x4mm oszlop). A detektálást 333 nm-en végeztük, ami az OA és O α második abszorpció maximuma.

Avékonyréteg kromatográfiánál megmaradt diklórmétános oldatokat szárazra pároltuk, majd 200 µl mobil fázisba vettük fel. Standardként OA (SIGMA) 5 ng/ml-es acetónitriles oldatát használtuk. O_α standardot OA-ból 6N sósavval történő hidrolízissel készítettünk.

4. Eredmények és értékelés

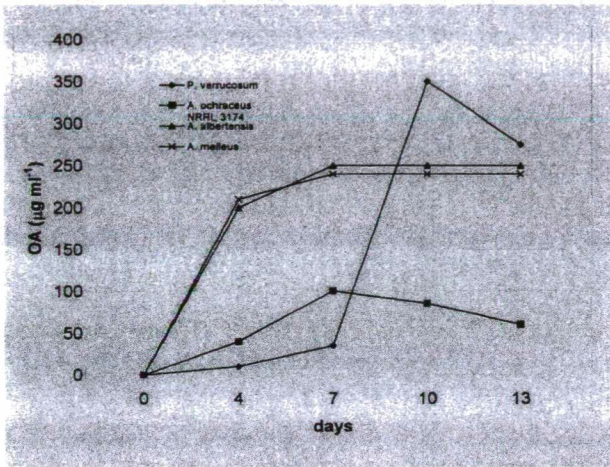
Összesen 7 zöld kávébab mintát, és számos fűszerféléit illetve egyéb élelmiszert (pl. müzlit, pörkölt szóját, ánizst, vaníliát) vizsgáltunk. A MO táptalajon inkubált kávészemek esetében a lassabb növekedésű *Aspergillus* fajokat gyakran túlnőtték a járomspórás gombák, ami különösen a zairei minta esetében okozott nehézséget. A DBR (diklorán-bengál-vörös tartalmú) táptalaj összetevői lassítják a járomspórás gombák növekedését, így 1 hetes inkubálás után az *Aspergillus* fajok könnyen izolálhatóak. A minták ochratoxin tartalmát és a róluk izolált *Aspergillus* fajokat mutatja az 1. táblázat. A vizsgált *Aspergillus* törzsek közül néhány *A. ochraceus* és *A. niger* törzsnél észleltünk ochratoxin

termelést a Toxiklon ELISA készletet alkalmazva. Ez a megfigyelés arra utal, hogy az élelmiszerek ochratoxin fertőzöttségének nem az *A. ochraceus* az egyedüli forrása. A legszennyezettebb zairei kávémintából nem tudtunk OA-termelő *Aspergillus* törzseket izolálni. Ennek valószínű magyarázata, hogy ebben a mintában az OA szennyezést *Penicillium* fajok okozhatták.

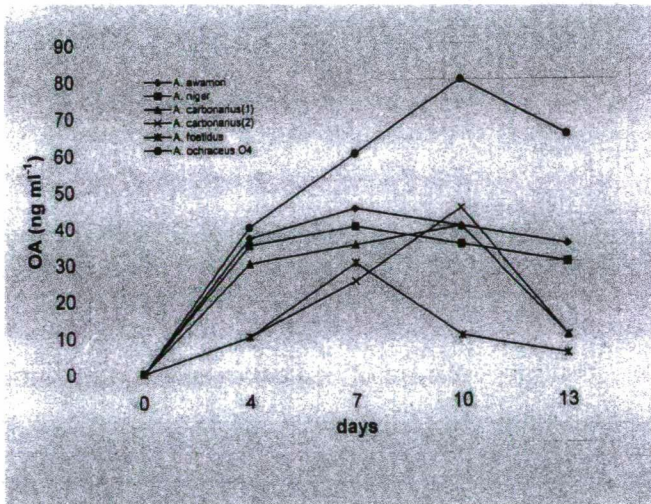
Vizsgáltuk a különböző penészgomba fajok ochratoxin termelő képességét különböző kémiai analitikai és immunkémiai módszerekkel. A vizsgált fajok között találtunk nagy mennyiségű OA termelő, illetve kis mennyiséget termelő törzseket is. Az előbbi csoportba tartoznak a *Penicillium verrucosum*, *Aspergillus ochraceus*, *A. albertensis*, *A. melleus* fajok vizsgált törzsei. Kis mennyiségű OA –t termelnek a következő fajok törzsei: *A. awamori*, *A. niger*, *A. carbonarius*, *A. foetidus*, *A. ochraceus*.

I. táblázat. A vizsgált élelmiszerek penészgomba fertőzöttsége illetve OA szennyezettsége

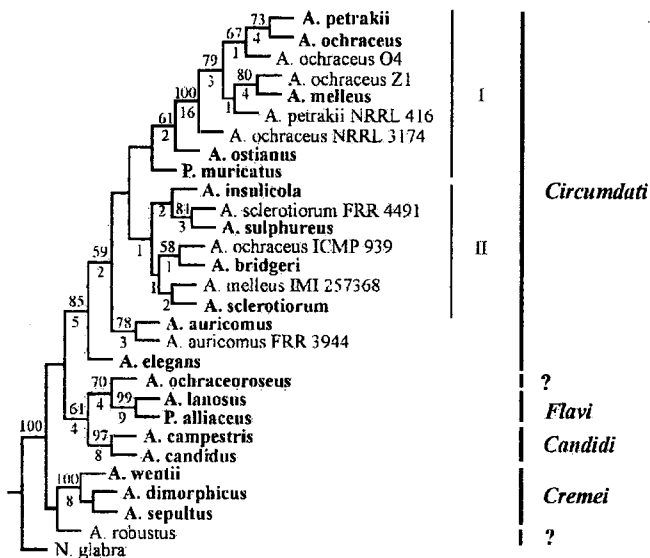
Termény eredete	OA ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Izolált <i>Aspergillus</i> fajok (az OA termelő vastagon szedve)
zöld kávé (Brazília)	6.0	<i>A. niger</i>
zöld kávé (Brazília, Santos)	2.5	<i>A. niger</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. tamarii</i>
zöld kávé (Uganda, robusta)	2.0	<i>A. niger</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i>
zöld kávé (Vietnam)	3.5	<i>A. fumigatus</i> , <i>A. niger</i>
zöld kávé (Zaire)	9.0	<i>A. niger</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. fumigatus</i>
kakaóbab (?)	ND	" <i>A. fumigatus</i> "
chilipaprika (?)	ND	<i>A. niger</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. fumigatus</i>
müzli (Magyarország)	ND	<i>A. niger</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> , <i>Fusarium</i> ,
sage (Anglia)	ND	<i>A. niger</i>
kókuszos mogoró	ND	<i>A. niger</i>
mogoró (USA)	ND	<i>A. niger</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. fumigatus</i> ,
ánizs (Olaszország)	ND	<i>A. niger</i>
curry por (India)	ND	<i>A. niger</i> , <i>A. flavus</i>
pecandió (Hollandia)	ND	<i>A. niger</i> , <i>A. flavus</i>
száritott paszternák (H)	ND	<i>A. niger</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. flavus</i>
őrölt paprika (Dél-Afrika)	ND	<i>A. niger</i> , <i>A. flavus</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Trichothecium</i> , <i>Penicillium</i>
tapéta (Magyarország)	ND	<i>A. niger</i>
bors (?)	ND	-
vanília (?)	ND	-



3. ábra. Nagy mennyiségű OA termelő fajok termelési kinetikája



4. ábra. Kis mennyiségű OA termelő fajok termelési kinetikája



Consensus tree of 49 most parsimonious trees
length 667 steps

5. ábra. Az *Aspergillus* nemzetség *Circumdati* szekciójának rokonsági viszonyai az ITS szekvencia analízise alapján

Az OA termelő *Aspergillus* fajok analízisét végeztük el ITS szekvencia adatok alapján. A *Circumdati* szekcióba tartozó fajokat ez alapján két nagy csoportra lehet elkülöníteni. Azt tapasztaltuk, hogy az OA termelő képesség nem monofiletikus sajátosság, az evolúció során elveszhetett és kialakulhatott ezért az OA termelő fajok a törzsfán szétszórtn megtalálhatók.

Irodalom:

- Abarca, M.L., Bragulat, M.R., Castellá, G. és Cabañes, F.J. (1994) Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 2650-2652.
- Abarca, M.L., Bragulat, M.R., Castellá, G., Accensi, F. és Cabañes, F.J. (1997) New ochratoxigenic species in the *Aspergillus* genus. *J. Food Prot.* 60, (nyomtatás alatt)
- Chelkowski, J., Samson, R.A., Wiewiorowska, M. és Golinski, P. (1987) Ochratoxin A formation by isolated strains of the conidial stage of *Aspergillus glaucus* Link ex Grey (=Eurotium herbariorum Wiggers Link ex Grey) from cereal grains. *Die Nahrung* 31, 267-270.

- Ciegler, A. (1972) Bioproduction of ochratoxin A and penicillic acid by members of the *Aspergillus ochraceus* group. *Can. J. Microbiol.* 18, 631-636.
- Elias, K.S., and Cotty, P.J. (1996) Incidence and stability of infection by double-stranded RNA genetic elements in *Aspergillus* section Flavi and effects on aflatoxicogenicity. *Can. J. Bot.* 74, 716-715.
- Horie, Y. (1995) Productivity of ochratoxin A of *Aspergillus carbonarius* in *Aspergillus* section Nigri. *Nippon Kingakkai Kaiho* 36, 73-76.
- King, A.D.Jr., Hocking, A.D. és Pitt, J.I. (1979) Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods. *Appl. Environ. Microbiol.* 37, 959-964.
- Kevei, É., Tóth, B., Rigó, K., Téren, J., Varga J., (1998) Molecular analysis of the ochratoxigenic *Petromyces* genus, Symposium on Medical Biotechnology
- Ono, H., Kataoka, A., Koakutsu, M., Tanaka, K., Kawasugi, S., Wakazawa, M., Ueno, Y. és Manabe, M. (1995) Ochratoxin A producibility by strains of *Aspergillus niger* group stored in IFO culture collection. *Mycotoxins* 41, 47-51.
- Pontecorvo, G., Roper, J.A., Hemmons, L.M., MacDonald, K.D., and Bufton, A.W.J. 1953. The genetics of *Aspergillus nidulans*. *Adv. Genet.* 5: 141-238.
- Raper, K.B. és Fennell, D.I. (1965) The genus *Aspergillus*. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Samson, R. E. (1994) Current systematics of the genus *Aspergillus*. In *The genus Aspergillus: from taxonomy and genetics to industrial applications* Szerk. Powell, K.A., Renwick, A. és Peberdy, J.F., Plenum Press: New York, 261-276.
- Schmidt, F.R., Davis, N.D., Kelley, V.C., Diener, U.L., és Lemke, P.A. (1983) Minor nucleic acid components in *Aspergillus flavus*. *Abstr. Ann. Meet. Soc. Microbiol.* 83, 135.
- Schmidt, F.R., Lemke, P.A., és Esser, K. (1986) Viral influence on aflatoxin formation by *Aspergillus flavus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 24, 248-252.
- Solti, L., Salamon, F., Barna-Vetró, I., Gyöngyösi, Á., Szabó, E., and Wölfling, A., (1997) Ochratoxin content of human sera determined by a sensitive ELISA. *J. Anal. Toxicol.* 21, 44-48.
- Tápai, K., Téren, J., Mesterházy, Á., (1997) Ochratoxin A in the sera of blood donors and ill persons. *Cereal Res. Commun.* 25, 307-308.
- Téren, J., Draskovics, I. és Novák, E.K. (1990) Mikotoxinok, Toxinogén gombák, mikotokszinok. Magyar Élelmiszertudományi Egyesület.
- Téren, J., Varga, J., Hamari, Zs., Rinyu, E. és Kevei, F. (1996) Immunochemical detection of ochratoxin A in black *Aspergillus* strains. *Mycopathologia* 134, 171-176
- van der Merwe, K.J., Steyn, P.S. és Fourie, L. (1965) Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus* Wilh.. *Nature* 205, 1112-1113.

- Varga, J., Kevei, É., Rinyu, E., Téren, J. és Kozakiewicz, Z. (1996) Ochratoxin production by *Aspergillus* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 4461-4464.
- Wicklow, D.T., Dowd, P.F., Alfatafta, A.A. és Gloer, J.B. 1996. Ochratoxin A: an antiinsectan metabolite from the sclerotia of *Aspergillus carbonarius* NRRL 369. *Can. J. Microbiol.* 42, 1100-1103.
- Wu, M.T. és Ayres, J.C. (1974) Effects of dichlorvos on ochratoxin production by *Aspergillus ochraceus*. *J. Agr. Food Chem.* 22, 536-537.

EXAMINATION OF MYCOTOXIN PRODUCTION IN *ASPERGILLUS* SPECIES

K. RIGÓ, J. VARGA, J. TÉREN and G. SZABÓ

SZTE University College of Food Engineering
6724 Szeged, Mars tér 7.
Phone/Fax.: +36-62/546-024
E-mail: christa@bibl.szef.u-szeged.hu

ABSTRACT

Ochratoxin contamination of cereal grains and other plant products is a serious health hazard throughout the world since ochratoxins exhibit a range of pharmacological effects on animals and humans. Ochratoxins are fungal secondary metabolites produced by different *Aspergillus* and *Penicillium* species, which exhibit nephrotoxic, teratogenic, immunosuppressive and carcinogenic effects. Ochratoxins frequently contaminate cereals and other plant products. This review deals with the chemistry, biosynthesis, metabolism and mode of action of ochratoxin A. Possible strategies for controlling ochratoxin levels in feeds and foods.