



MAGYAR AGRÁR- ÉS
ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM

**A magyar fogyasztók aflatoxin M1 expozíciójának determinisztikus és
probabilisztikus modellezése a tej és tejtermékek szennyezettsége
alapján**

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Kerekes Kata

Gödöllő

2021

A doktori iskola

megnevezése: Élelmiszertudományi Doktori Iskola

tudományága: Élelmiszertudományok

vezetője: **Simonné Dr. Sarkadi Livia**
egyetemi tanár, DSc
MATE, Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Táplálkozástudományi Tanszék

Témavezető: **Dr. habil Ambrus Árpád**
címzetes egyetemi tanár, CSc
ny. tudományos főtanácsadó

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

1 BEVEZETÉS

1.1 A téma aktualitása, a munka előzményei

A mikotoxinok olyan fonalaszgombák (penészgombák) által termelt másodlagos anyagcseretermékek, amelyek a takarmányoknak és élelmiszer nyersanyagoknak szánt mezőgazdasági terményeket beszennyezve jutnak be az élelmiszerláncba. A különböző mikotoxinok terjedése, az általuk okozott gazdasági károk, a fogyasztásukból adódó humán- és állategészségügyi kockázatok mind európai, mind nemzetközi szinten évtizedek óta foglalkoztatják az élelmiszerbiztonsági területen dolgozókat. Az Európai Élelmiszer-biztonsági Hatóság (EFSA) és a német Szövetségi Kockázat-értékelési Intézet (BfR) kockázatbecslési értékelései számos egyéb tudományos publikációval összhangban felhívták a figyelmet arra, hogy a lakosság egy része mikotoxinokra nézve, bizonyos élelmiszerek fogyasztása kapcsán tolerálható beviteli értéket meghaladó expozíciónak lehet kitéve.

Különös figyelmet kapott az aflatoxinok csoportja, amelyekre genotoxikus és rákkeltő voltak miatt még tolerálható napi beviteli érték sem állapítható meg. Az EFSA élelmiszerláncba bekerülő szennyező anyagokkal foglalkozó tudományos testülete (CONTAM Panel) 2007-ben azt az ajánlást fogalmazta meg, hogy a különböző élelmiszer-forrásból származó aflatoxinok bevitelét a lehető legalacsonyabb szinten kell tartani. A bizottsági ajánlások azt javasolták a tagállamoknak, hogy folytassanak további vizsgálatokat a témában és kiemelten monitorozzák az élelmiszerek aflatoxin-tartalmát. A javaslatot több tagországi kutatás és tanulmány követte. Hazánkban elkészült a gabona alapú termékek mikotoxin szennyezettségének élelmiszer-biztonsági értékelése és több, mikotoxinokra vonatkozó expozícióbecslés is született az azóta eltelt években.

Más európai országok is aktív szerepet vállaltak az aflatoxinok kutatásában. Az olaszországi Piacenzai Egyetem kutatóinak az eredményei előre jelezték, hogy az éghajlatváltozás következtében Európában is növekedni fog az aflatoxinokkal szennyeződött kukorica előfordulása. E tekintetben mind a kritikusan magas kockázatú, de kevesebb gabonát termeszto dél-európai régiókat mind az északibb fekvésű közepes kockázatú, de nagy mennyiségű gabonát termeszto régiókat is kiemelték, köztük a négy fő (vagyis összesen 2009-ben az EU kukorica termesztesének 73%-át adó) kukoricatermelő országát: Romániát, Franciaországot, Északkelet-Olaszországot és Magyarországot is.

Egy több éven át tartó nemzetközi projekt keretében, az olasz tejipar adatai alapján, munkatársaimmal kidolgoztunk egy olyan mintavételi tervet a nyers tej aflatoxin M1 tartalmának detektálására, amely a mintaszámokat optimalizálva, mégis hatékonyan képes előre jelezni a szennyeződés mértékének változását. A mintavételi terv gyakorlati alkalmazhatóságát, egy az azt alapul vevő korai előrejelzési rendszer használatát bemutató esettanulmányon keresztül igazoltuk. Továbbá a 2013-2016 közötti időszakból származó, több mint 25 000 tej minta aflatoxin M1 koncentráció adataiból determinisztikus megközelítéssel becsültük az olasz fogyasztók aflatoxin expozícióját. A tanulmány eredménye felhívta a figyelmünket arra, hogy a fogyasztók egy részénél az aflatoxin M1 kitettség mértéke egészségügyi szempontból aggodalomra ad okot. Mivel az elmúlt években bebizonyosodott, hogy amennyiben az időjárási körülmények támogatják azt, a gabonák aflatoxinnal való szennyeződése hazánkban is nagyon magas értékeket érhet el, indokoltnak tartottuk a magyar lakosság aflatoxin M1 bevitelének becslését.

Az EFSA több alkalommal is értékelte az európai fogyasztók aflatoxin expozícióját és megállapította, hogy az eredmények mind az aflatoxin B1, mind az aflatoxin M1 tekintetében aggasztóak, különösen a fiatalabb korosztályok esetében. A rendkívül intenzív nemzetközi élelmiszer-kereskedelem miatt feltételezhető, hogy a magyar lakosság is hasonló mértékű kockázatnak van kitéve, mint általában az európai lakosság, de mivel az európai becslések nem tartalmazzak részletes információt a magyar fogyasztók kitettségével kapcsolatban, ezért fontos, hogy megfelelő módszerekkel rendelkezünk az expozíció lehető legpontosabb becslésre és azt alkalmazzuk az elérhető hazai adatokon.

1.2 Célkitűzések

Munkám során célul tűztem ki a magyar fogyasztók napi átlagos aflatoxin M1 bevitelének közelítő becslését determinisztikus és probabilsztikus modellek felhasználásával és a kapott eredmények realitásának vizsgálatát az európai adatok tükrében.

Ennek érdekében a következő megoldandó elemzési és gyakorlati feladatokat tűztem ki célul:

- az aflatoxinok előfordulásával kapcsolatos magyar monitoring vizsgálati eredmények és a hazai tejtermelő üzemekben mért koncentráció adatok elemzése;

- a fenti adatok ismeretében, azok közvetlen felhasználásával, illetve parametrikus függvényillesztéssel generált eloszlások figyelembevételével meghatározni az aflatoxin szennyezéseket legjobban jellemző eloszlásokat;
- a magyar fogyasztási felmérésekben szereplő tejtermékek és a tejtermékek gyártása során bekövetkező aflatoxin koncentráció változást jellemző feldolgozási faktorok adatbázisának kialakítása;
- a magyar lakosság tej és tejtermék fogyasztási mintázatának megismerése, a fogyasztási szokások 10 év alatt bekövetkező változásának vizsgálata;
- a napi átlagos tej és tejtermék fogyasztási mennyiségek számszerű meghatározása korcsoportonként, a kapott mennyiségek tej ekvivalensben kifejezése, a hosszú távú expozíció jellemzéséhez;
- a magyar fogyasztók hosszú távú aflatoxin bevitelének becslésére alkalmas determinisztikus és probabilisztikus modellek kidolgozása KNIME keretrendszerben;
- a különböző modellek lefuttatásával kapott expozíció eredmények összehasonlítása és elemzése;
- a becsült expozíciók alapján a magyar fogyasztói korcsoportok aflatoxin bevitelből adódó kockázatának jellemzése a nemzetközi gyakorlatban alkalmazott módszerek felhasználásával.

2 ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1 Élelmiszerfogyasztási adatok

A számításokat két, 10 év különbséggel készült országos, reprezentatív élelmiszerfogyasztási felmérés adataival végeztem el, ezáltal a tej és tejtermék fogyasztási szokások változásáról is képet kaphatunk.

A 2009-es élelmiszerfogyasztási adatok a MÉBIH (Magyar Élelmiszerbiztonsági Hivatal) országos, reprezentatív, három évszakot átölelő élelmiszerfogyasztási felméréséből származnak, amely a KSH-val (Központi Statisztikai Hivatal) együttműködésben készült. A 4992 személy részvételével lezajlott felmérés rögzítette a résztvevők életkorát, testmagasságát, testtömegét. Egy fogyasztási gyakorisági kérdőív kitöltésével a ritkán fogyasztott és speciális élelmiszerek (pl. étrendkiegészítők) fogyasztott mennyiségeit adták meg a résztvevők. A táplálkozási szokásokat két hétköznapi és egy hétvégi nap során rögzített étrendi naplóval mérték fel, amelynek kitöltését útmutató és az adagnagyságok megítélését támogató képes könyv segítette. A három napos felmérés összesen 14 976 fogyasztási nap dietetikusok által feldolgozott és nyersanyagra lebontott

élelmiszerfogyasztási adatait szolgáltatja az élelmiszerfogyasztási szokások jellemzéséhez.

A 2009-es felmérés 14 976 fogyasztási napjából összesen 11 267 tej fogyasztási napot (75,2%) rögzítettek, a tejföl és tejszín fogyasztás gyakorisága 52,8% volt, sajtófogyasztást a felmérési napok 46,3%-án, kefir vagy joghurt fogyasztást a fogyasztási napok 19,1%-án rögzítettek.

A legújabb, országos élelmiszerfogyasztási adatok a NÉBIH 2018-2020-as felméréséből származnak. A felmérés az EFSA egész Európára kiterjedő EU MENU, avagy „Mi van terítéken Európában?” projektjének keretében, az ajánlott, egységes módszertannak megfelelően valósult meg. A résztvevő személyeket a KSH Háztartási költségvetési és életkörülmények adatfelvételben résztvevő háztartásokból választották ki.

A program során 2 657, 1 és 74 év közötti személy két fogyasztási napját rögzítették dietetikusok segítségével. A résztvevők személyesen vagy telefonos interjú formájában számoltak be az előző napon elfogyasztott élelmiszerekről. Az élelmiszerek elfogyasztott mennyiségeinek megítélését képeskönyv segítette. A felmérés testtömeg és testmagasság méréssel, illetve élelmiszerfogyasztási gyakorisággal és fizikai aktivitással kapcsolatos kérdőívvel is kiegészült, amelyek az interjút megelőző 12 hónap egy szokásosnak mondható hetére vonatkoztak, az 1-9 éves korosztály fogyasztási szokásainak rögzítését pedig étkezési napló segítette.

A 2018-2020-as felmérés 5 314 fogyasztási napjából összesen 5 145 tej fogyasztási napot (96,8%) rögzítettek, a tejföl és tejszín fogyasztás gyakorisága 54% volt, sajtófogyasztást a felmérési napok 60,6%-án, kefir vagy joghurt fogyasztást a fogyasztási napok 24%-án rögzítettek.

Mind az élelmiszerfogyasztási mind a szennyezettségi adatok anyagtípusait az EFSA által kidolgozott FoodEx élelmiszerkategorizálási rendszer szerint soroltam be. A FoodEx klasszifikációs rendszert azért hozták létre, hogy megkönnyítsék az expozícióbecsléshez szükséges adatok közötti kapcsolat megteremtését.

2.1.1 Fogyasztói korcsoportok

A magyar lakosság fogyasztási adatait mindkét élelmiszerfogyasztási felmérés esetében azonos korcsoportok szerint 5 kategóriába (tipegők, gyermekek, serdülők, felnőttek, idősek) soroltam az EU MENU (EFSA) metodikát követve. Mivel az EU MENU felmérés nem terjedt ki a csecsemők

(0-1 év) korcsoportjára, ezért, valamint a korcsoport alacsony elemszáma (26 fő) miatt, ezt a korcsoportot a 2009-es felmérés esetében nem vettem figyelembe. Jelentős különbség van a két ételmszerfogyasztási felmérés korcsoportjainak elemszámát tekintve. A 2009-es felmérés típegők korcsoportja csupán 90 fogyasztó adatát tartalmazza, a felnőttek korcsoportjában viszont nagy fogyasztói létszám figyelhető meg a többi korcsoporthoz képest. A 2018-2020-as felmérés esetében a fogyasztók száma egyenletesen oszlik meg a korcsoportok között. A felmérésben résztvevő alanyok szinte mindegyike (97-98%) fogyasztott tejet vagy valamilyen tejterméket a fogyasztási felmérés vizsgált napjain.

2.1.2 Aflatoxin koncentráció adatok

Az AFM1 vizsgálati adatok részben (1 288 db) a NÉBIH 2011-2020 közötti országos monitoring felméréséből származnak. A minták 40%-a tartalmazott mérhető mennyiségű AFM1-et. A mérések zömét tejtermelő gazdaságok, magán termelők tejéből, kis arányban boltokban kapható elegytejéből vett mintákból, ELISA és HPLC módszerekkel végezték. A mikotoxin adatok elemzését adattisztítási lépések előzték meg. A teljes lekérdezésből kizártam az objektív becslést befolyásoló vizsgálatok pl. a belső ellenőrzések, körvizsgálatok eredményeit. A nagyszámú LOQ alatti (60%) szennyezést mutató tételek mellett az átlaghoz viszonyítva nagyon magas szennyezettségű tételek is előfordultak. A 100 ng/kg feletti értékek rendre: 110, 122, 141, 149, 150, 190, 238, 240, 252, 260, 292, 376, 513, 740 és 860 ng/kg. Az eredmények realitását nem állt módomban ellenőrizni, de nem láttam indokoltnak a kihagyásukat sem, ezért a teljes adatsort felhasználtam a további számításaimhoz. Az adatokat a releváns ételmszer kategóriák szerint csoportosítottam, kiszűrtem a nem releváns anyagtípusokat pl. takarmányok és elvégeztem az ételmszerek besorolását FoodEx kategóriákba. A kétes mérési eredményekkel kapcsolatban konzultáltam a labor munkatársaival.

Az AFM1 mérési eredmények másik része a Debreceni Egyetem és a NÉBIH közös projektjének 2021. januárjáig elvégzett vizsgálataiból származik. Az összesen 1 177 db, tejből mért AFM1 mérési eredményből az LOQ fölötti minták száma 672 (57,1%). Ezeket a 2019-ben, 2020-ban és 2021-ben a projektben közreműködő 9 tehenészeti telepen vett mintákat ELISA módszerrel vizsgálták, majd azokon a mintákon, amelyek esetében 20 ng/kg fölötti koncentrációt mutatott ki a vizsgálat, a NÉBIH laboratóriumában megerősítő HPLC vizsgálatot végeztek. Ezeknél a mintáknál a HPLC vizsgálat eredményét használtam fel a számításokhoz.

A NÉBIH és a DE vizsgálati eredményeinek relatív gyakorisági eloszlását összehasonlítva megállapítottam, hogy a 10-15 ng/kg tartományba eső NÉBIH-es mérési eredmények egy kiugró értékének kivételével, az AFM1 koncentrációk gyakorisága az LOQ-70 ng/kg tartományban a két méréssorozatban nagyon hasonló és indokolja a mérési eredmények együttes értékelését. A 70 ng/kg koncentráció feletti AFM1-et tartalmazó minták relatív gyakorisága a NÉBIH vizsgálatainál <0,5% volt.

Az aflatoxinok kockázatbecslése szempontjából limitáló tényező a szennyező adatok hiánya volt. Az EFSA ajánlása alapján ki kell zárni a kockázatbecslésből azokat az élelmiszer kategóriákat, amelyek esetében a pozitív minták száma nem haladja meg a 25-öt, vagy a meghatározási határ alatti minták aránya nagyobb, mint 80%. Az AFM1 eredmények tekintetében csak a tej vizsgálatok feleltek meg ennek a kritériumnak, a feldolgozott tejtermékek vizsgálatainak száma igen csekély volt.

Ennek következtében a feldolgozott tejtermékek esetében nem tudtam tényleges mérési eredményeket figyelembe venni az expozícióbecsléshez. Ehelyett a tejben mért AFM1 koncentráció adatokból származtatott értékekkel számoltam a feldolgozott tejtermékek feldolgozási faktorainak figyelembevételével, amelyhez élelmiszercsoportonként a szakirodalmi adatok minimum, medián és maximum értékeit használtam fel.

2.2 A determinisztikus módszer

A kockázatbecslés során az ajánlott, lépcsőzetes megközelítést alkalmazva, először determinisztikus (szemi-parametrikus) módszerrel állapítottam meg a magyar populáció átlagos kitettségét. Ehhez a tejben mért aflatoxin M1 koncentráció adatok átlagát használtam fel. A koncentráció adatok LOQ alatti értékeit a mérési eredmények számával megegyező imputált (eloszlás segítségével generált) adatok értékével vettem figyelembe. Az imputálást az LOQ feletti értékekre, az LOQ alatti értékek arányának figyelembevételével illesztett lognormális eloszlást leíró paraméterek segítségével végeztem el. Az élelmiszerfogyasztási adatok esetében a hosszútávú becsléshez ajánlott OIM (Observed Individual Means, megfigyelt egyéni átlag) módszert alkalmaztam.

Először valamennyi tej és tejtermék fogyasztási adatot átszámítottam tej ekvivalensre az adott élelmiszerkategóriára jellemző feldolgozási faktorok segítségével (1. és 2. egyenlet).

e_1, \dots, e_j élelmiszerek g/ ttkg-ban kifejezett bevitele (B) adott (n) fogyasztási napon tej ekvivalensben kifejezve:

$$B_n = \frac{\sum_{e=1}^j (m_e \times F_e)}{ttkg_n} \quad (1. \text{ egyenlet})$$

ahol

m_e = a fogyasztott e élelmiszer tömege (g) n_i fogyasztási napon,

F az e élelmiszere vonatkozó feldolgozási faktor,

$ttkg$ az adott fogyasztási naphoz tartozó személy testtömege,

és

$$F_e = \frac{C_{AFM1_e}}{C_{AFM1_{tej}}} \quad (2. \text{ egyenlet})$$

ahol $C_{AFM1_{tej}}$ az e élelmiszer készítéséhez felhasznált tejben az AFM1 koncentráció, C_{AFM1_e} a feldolgozott élelmiszerekben, különböző kísérletek során kapott eredmények minimumából, mediánjából vagy maximumából számított érték.

A kapott, fogyasztási naponként összesített beviteli értékeket kg/testtömeg kg mértékegységben fejeztem ki. A fogyasztási mennyiségeket megszorozva az átlag AFM1 koncentrációval (ng/kg), megkaptam az egyes fogyasztási napokra vonatkozó expozíció értékeket (ng/kg ttkg/nap). A fogyasztásban résztvevő személyek – a 2018-2020-as felmérés esetében 2, a 2009-es felmérés esetében 3 – fogyasztási napjaihoz tartozó beviteli értékeket átlagoltam. Az eredményeket fogyasztói korcsoportonként összesítettem és mindkét élelmiszerfogyasztási felmérés adataira kiszámoltam.

A kapott expozíció értékek alapján a magyar lakosság kockázatának értékelésére az expozíciós tűréshatár (MoE) megközelítést (3. egyenlet), a veszélyességi index (hazard index, HI) számítást (4. egyenlet), valamint a AFM1 bevitelnek tulajdonítható májrák előfordulás valószínűségének növekedésének kiszámítását alkalmaztam. A MoE módszerhez az AFB1-re vonatkozó 0,4 µg/ttkg/nap BMDL₁₀ értéket tízszeres szorzóval (4 µg/ttkg/nap) vettem figyelembe, mivel az AFM1 tízszer kevésbé potens karcinogén, mint az AFB1.

$$MoE = \frac{BMDL_{10}}{EDI} \quad (3. \text{ egyenlet})$$

A veszélyességi index számítására a Kuiper-Goodmann által javasolt biztonságos dózist alkalmaztam (0,2 ng/ttkg/nap), amely az állatok 50%-ánál tumort okozó dózis és egy 50 000-es biztonsági faktor hányadosa. A Kuiper-Goodman által javasolt aflatoxin veszélyességi index számítása:

$$HI = \frac{EDI (ng\ ttkg^{-1}nap^{-1})}{0,2\ ng\ ttkg^{-1}nap^{-1}} \quad (4. \text{ egyenlet})$$

A májrák aflatoxin expozícióval összefüggő incidenciáját a következő számításokkal becsültem meg (5. egyenlet), 0,7%-os magyar hepatitis B prevalenciát feltételezve:

$$R_{Mo} = [(P_{HBV+} \times HBV+) + (P_{HBV-} \times (1-HBV+))] \times EDI \quad (5. \text{ egyenlet})$$

ahol R_{Mo} a Magyarország lakosságára vonatkozó májrák incidencia kockázata, HBV+ a magyar populációban a krónikus hepatitis B prevalenciája és P_{HBV+} a májrák kialakulásának a populáció e hányadára vonatkozó valószínűsége, P_{HBV-} pedig a populáció fennmaradó részében a májrák kialakulásának valószínűsége. A számításokat ebben az esetben is optimista és pesszimista forgatókönyvre is elvégeztem, utóbbinál ($CI95 R_{Mo}$) a napi 1 ng/ttkg AFB1 bevitel esetén a májrák kialakulás valószínűségének 95%-os konfidencia intervallumának felső határát figyelembe véve.

$$\text{Átlag } R_{Mo} = [(0,027 \times 0,007) + (0,002 \times 0,993)] \times EDI \quad (6. \text{ egyenlet})$$

$$CI95 R_{Mo} = [(0,056 \times 0,007) + (0,005 \times 0,993)] \times EDI \quad (7. \text{ egyenlet})$$

2.3 A probablisztikus módszerek

A probablisztikus becslésnél az LOQ feletti mérési eredményekre az R statisztikai szoftver maximum likelihood becslést alkalmazó GAMLSS és GAMLSS.dist csomagjai segítségével különböző eloszlásokat illesztettem, majd az illeszkedés jóságát leíró paraméterek (AIC – Akaike’s Information Criterion, BIC – Bayesian Information Criterion és teljes eltérés – Global Deviance) segítségével kiválasztottam az optimális illesztést adó eloszlást. Az AIC, BIC és Global Deviance esetében is a legkisebb értékkel rendelkező eloszlást kell a legjobban illeszkedőnek tekinteni.

Az illesztések megfelelőségét az adatokból készített hisztogram és a kapott eloszlás vizuális összevetésével, valamint az eltérések normalitás vizsgálatával és Q-Q plot segítségével is kiértékeltem. Az eltérés vizsgálat (residual statistics) és a Q-Q-plot is a valós és az illesztett adatok közötti

különbségeket/eltéréseket vizsgálja, majd az illesztés eltéréseinek (residuals) adathalmazát hasonlítja egy standard normál eloszláshoz és egy korrelációs koefficiens segítségével pontról pontra megvizsgálja, hogy azok mennyire térnek el attól.

A két legjobban illeszkedő eloszlás a két paraméteres lognormális és a négy paraméterrel jellemezhető Box-Cox t-eloszlás (BCT) volt, amely alkalmas az aflatoxinokhoz hasonló, pozitív vagy negatív torzulást mutató, lassan lecsengő, folyamatos eloszlással jellemezhető adatok modellezésére.

A kiválasztott eloszlásokat ezt követően a teljes AFM1 adatsorra illesztettem.

Ezt követően kétféle probabilisztikus módszerrel dolgoztam tovább:

Az első, – Probabilisztikus I. módszer (Prob. I.) – esetében mind a fogyasztónként számított átlagos napi fogyasztási adatokból, mind a tejmintákban mért AFM1 koncentrációkból visszahelyezéssel véletlen mintavétel (20 x 10 000 iteráció) segítségével 200 000 - 200 000 értéket generáltam, amelyek szorzatából 200 000 fogyasztói expozíció értéket számítottam. A koncentráció adatok LOQ alatti értékeit a mérési eredmények számával megegyező imputált (generált) adatok értékével vettem figyelembe. Az imputálást a koncentráció értékekre illesztett lognormális eloszlás leíró paramétereinek segítségével, illetve a kiválasztott, legtipikusabb LOQ tartomány (>5 ng/kg) figyelembevételével végeztem el. A különböző fogyasztói korcsoportokra kiszámított expozíció adatok relatív és kumulatív gyakoriságai jellemzik a várható kitettség valószínűségi értékeit.

A másik – Probabilisztikus II. módszer (Prob. II.) – esetében a kétdimenziós Monte Carlo modellt alkalmaztam. A Monte Carlo szimuláció az adatokra illesztett valószínűségi eloszlásból véletlen mintavétellel mintákat generál. A Monte Carlo eljárás előnye, hogy nem csak a mért adatok minimuma és maximuma közötti értékek kerülnek kiválasztásra, mint az egyszerű véletlen visszatevéses eljárás során, hanem az eloszlást jellemző görbe alatti értékek teljes spektrumát felhasználja a számításokhoz. Különösen nagy szerepük van az eloszlás két szélén lévő értékeknek, amelyek fontos szerepet játszhatnak a modellezésben.

A Monte Carlo modell egy külső és egy belső szimulációs hurokkal dolgozik. A belső hurokban a modell egymást követően többször elvégzi az expozíció számítását, véletlenszerűen mintázva a fogyasztási és a koncentráció adatokat, minden egyes iterációból kiszámítva az expozíció különböző percentiliseit (ez az expozíció variabilitása). Ezen expozíció számítások összessége a külső hurok egy iterációját teszi ki, és az expozíciók eloszlásának egy becslését adja

eredményül. A külső hurok is többször egymásután lefut, és mivel az ismételt iterációk a véletlen mintavétel következtében szükségszerűen eltérő percentilis értékeket fognak eredményezni, ezek eloszlása jellemzi a becslés bizonytalanságát. Tehát összefoglalva, a belső hurok szimulálja a napi expozíciókban várható variabilitást, a külső hurok pedig a becslés bizonytalanságát. A számítási sorozatok végén a modell a kumulatív gyakorisági grafikon, valamint percentilis értékek segítségével jellemzi a vizsgált populáció várható expozícióját. A grafikonon ábrázolja a 2,5. percentilis, a medián és a 97,5. percentilis becslés 50%-os és 95%-os bizonytalansági intervallumát a becsült expozíció teljes spektrumában.

2.4 A KNIME szoftver

A számításokat a KNIME (Konstanz Information Miner) szoftver segítségével végeztem el. Ez egy ingyenesen hozzáférhető, nyílt forráskódú adatelemző szoftver. A KNIME-mal adatelemzési építőkockákat („node”-ok) összekötve lehet létrehozni teljes munkafolyamatokat („workflow”-kat), minden node egy számítási műveletet vagy adatfunkciót lát el.

A KNIME alkalmas arra, hogy egyetlen fájlban tároljuk moduláris formában az adatokkal elvégzendő feladatokat, továbbá akár magukat az adatokat is. Mind a bevitt adatok, mind az adatokkal elvégzendő feladatok szabadon szerkeszthetők, az egyes node-ok egyéni feliratokkal láthatók el, a munkafolyamatokhoz, vagy azok bizonyos részeihez szövegmagyarázatok, kiegészítő információk vagy akár használati instrukciók is illeszthetők.

A program R és Python (programozási nyelvek) integrációival rendelkezik, így azoknak a számítási feladatoknak az elvégzésére, amelyekre nem létezik beépített KNIME modul, felhasználhatók R és Python kódok, amelyek a KNIME-on belül futtathatók. A kidolgozott expozícióbecslési metodikák bárki számára hozzáférhetővé tehetők, szabadon módosíthatók, optimalizálhatók, könnyen adaptálhatók más szennyezőanyag-élelmiszer kombinációkra, illetve kibővíthetők további modulokkal, vagy további adatforrások felhasználásával is.

3 EREDMÉNYEK

3.1 A tejtermékek AFM1 feldolgozási faktorainak adatbázisának létrehozása

A savanyított tejtermékekre, valamint a különböző sajtokra (kemény, félkemény, lágy és feldolgozott sajtok, friss sajtok) vonatkozó AFM1

feldolgozási faktorokat a legfrissebb szakirodalmi adatok feldolgozásával gyűjtöttem össze.

A 2009-es és 2018-2020-as étel- és ital-fogyasztási felmérések AFM1 szempontjából releváns étel- és ital-kategóriáit besoroltam a feldolgozott tejtermékek kategóriái közé és a rájuk vonatkozó feldolgozási faktorokkal láttam el. A számításokat a feldolgozási faktorok minimum, medián és maximum értékeivel egyaránt elvégeztem.

Az adatbázis jelenleg az étel- és ital-fogyasztási felmérésekben szereplő, AFM1 szempontjából releváns étel- és ital-kategóriák feldolgozási és faktorainak 85%-át fedi le (a vaj, vajkrém, sűrített tej, tejszín és a jégkrémek kivételével). A táblázatot az általam létrehozott expozícióbecslési modell forrás adatbázisként használja, ezért a becslések eredményei a kezdeti adatbázis további adatokkal történő bővítése, vagy részletesebb alábontása esetén automatikusan tovább pontosíthatók, a számítások újbóli lefuttatásával.

3.2 A tej és tejtermék fogyasztási gyakoriságának változása 2009-es és a 2018-2020-as felmérés alapján

A tej és a különböző tejtermékek fogyasztási gyakoriságának változását a 2009-es és a 2018-2020-as étel- és ital-fogyasztási felmérések tej és tejtermék fogyasztási napjainak segítségével hasonlítottam össze. A különböző étel- és ital-csoportok fogyasztási napjainak számát az adott felmérés összes fogyasztási napjához viszonyítottam. A módszer tehát a vizsgált felmérési időszakokban a különböző étel- és ital-csoportok fogyasztásának előfordulási gyakoriságát jellemzi. A vizsgált étel- és ital-kategóriák közül a tej és a tej alapú desszertek fogyasztási gyakorisága körülbelül 20%-kal nőtt. A sajtok fogyasztási gyakorisága 14%-os emelkedést mutat. A savanyított tejtermékek (kefir, joghurt, tejföl), a tejszín és az ízesített tejek fogyasztási gyakorisága közel állandó maradt. A sűrített tej és tejszín fogyasztási gyakorisága jelentősen csökkent. Összességében megállapítható, hogy a tej és tejtermékek fogyasztási gyakorisága az elmúlt 10 év alatt kissé emelkedett.

A fogyasztási gyakoriságok 10 év alatt bekövetkező változásából kiindulva, az aflatoxin expozíció növekedésére lehetne számítani, azonban ezt a hatást a fogyasztási mennyiségek változása ellensúlyozta. A feldolgozási faktorok medián értékével számított, tej ekvivalensben kifejezett átlagos fogyasztási mennyiség 2009-ben még 310,7 g/nap volt, ez az érték 2018-2020-ban 295,3 g/napra csökkent.

3.3 Az expozícióbecslések eredményei

A következőkben az eltérő módszerekkel számított expozícióbecslések részeredményeit több, különböző szempont alapján hasonlítom össze. Az eredmények különbözőségét varianciaanalízissel (ANOVA) vizsgáltam, 0,05-ös szignifikancia szint mellett.

3.3.1 A feldolgozási faktorok minimum-medián-maximum értékeinek figyelembevételével számított eredmények összehasonlítása

A determinisztikus módszerrel számított átlag és 97,5. percentilis eredmények összehasonlításához a 2018-2020-as (EU MENU) felmérés eredményeit választottam. A feldolgozási faktorok minimum-medián-maximum értékeinek figyelembevétele nem befolyásolta számottevően az eredményeket. Szignifikáns különbség csak a tipegők korcsoportjának átlag értékeinél, a minimum és medián faktorok esetében adódott, ezért a továbbiakban a különböző expozícióbecslési eredmények bemutatásához a feldolgozási faktorok mediánjával számolt értékeket használom.

3.3.2 A fogyasztói korcsoportok expozíciójának összehasonlítása

A következő kiértékelési szempont a különböző fogyasztói korcsoportok expozíciójának összehasonlítása volt, amelyhez a 2,5. percentilis, átlagos, medián és 97,5. percentilis becsült napi beviteli értékeket (EDI - estimated daily intake - ng/ttkg/nap) vettem figyelembe. A számítások a 2009-es ételmiszerfogyasztási felmérés adatai alapján, determinisztikus módszerrel, a feldolgozási faktorok mediánjának és az AFM1 koncentráció adatok átlagának figyelembevételével készültek.

A becslés bizonytalanságának 95%-os tartományát figyelembe véve a tipegők kitettsége 0,03-0,55 ng/ttkg/nap tartományba esik, és 0,26 ng/ttkg/nap (szórás 0,14 ng/ttkg/nap) átlag és 0,24 ng/ttkg/nap medián értékkel jellemezhető. A gyermekek kitettsége a 0,04-0,34 ng/ttkg/nap tartományba esik, és 0,15 ng/ttkg/nap (szórás 0,09 ng/ttkg/nap) átlag és 0,13 ng/ttkg/nap medián értékkel. A serdülők, felnőttek és idősek korcsoportjának kitettsége jóval alacsonyabb, $\leq 0,01$ és 0,17 ng/ttkg/nap közötti tartománnyal jellemezhető, 0,04-0,06 ng/ttkg/nap átlag és 0,03-0,06 medián értékek mellett. A korcsoportok közötti különbség szignifikánsnak tekinthető (p -érték = 0,003).

A legmagasabb kitettségi értékek tehát a legfiatalabb, a legalacsonyabb kitettségi értékek a legidősebb korcsoportok esetében figyelhetők meg. Az összefüggés azonban nem közvetlenül a kor és a beviteli mennyiségek, hanem

az idősödő korcsoportok (jellemzően növekvő) testtömegében megfigyelhető változás és a bevitt mennyiségek között van, mivel a kitettségi értékek egy testtömeg kilogrammra vonatkoztatva vannak megadva.

3.3.3 A 2009-es és 2018-2020-as expozíció eredmények összehasonlítása

A 2009-es és a 2018-2020-as expozícióbecslések közötti különbségek vizsgálatához a determinisztikus és a probabilisztikus I. (véletlen visszatevéses) módszer eredményeit választottam. Mindkét esetben a feldolgozási faktorok mediánjával számolt adatsor eredményeit mutatom be. A determinisztikus becslésnél az AFM1 koncentráció adatok átlagával, a probabilisztikus módszer esetében az AFM1 koncentrációkra illesztett lognormális eloszlás segítségével generált adatokkal számoltam.

Mind az átlag, mind a 97,5. percentilis becsült napi beviteli értékeket összehasonlítva, az egyes korcsoportok expozíciója az elmúlt 10 évben többnyire állandónak bizonyult. Szembetűnő különbség csak a tipegők korcsoportjának átlag értékei és a gyermekek korcsoportjának 97,5. percentilis értékei között figyelhető meg, azonban a különbség csak az utóbbi esetben bizonyult statisztikailag szignifikánsnak (p érték = 0,04).

Nagyon hasonló eredményeket kaptam a probabilisztikus I. módszerrel is, habár ez a számítási mód magasabb 97,5. percentilis eredményeket adott eredményül, az egyes korcsoportok 2009-es és 2018-2020-as expozíció adatai között – a tipegők korcsoportjának 97,5. percentilis értékei kivételével (p érték = 0,04) – nincs szignifikáns különbség. Habár a tej és tejtermék fogyasztási gyakoriságok az elmúlt 10 év távlatában kissé emelkedtek, ez nem eredményezte az aflatoxin expozíció növekedését, mert az átlagos fogyasztási mennyiségek csökkenése ellensúlyozta ezt a változást.

3.3.4 A determinisztikus és a probabilisztikus módszerekkel számított eredmények összehasonlítása

A következőkben a determinisztikus, a probabilisztikus I. módszer, illetve a probabilisztikus II. módszer (2 dimenziós Monte Carlo modell) Box-Cox t-(BCT) és lognormális (LogNorm) eloszlással számított expozíció eredményeit hasonlítom össze. Valamennyi számítás a 2018-2020-as fogyasztási felmérés eredményein alapul. A különböző expozícióbecslésekkel számított medián, átlagos és 97,5. percentilis becsült napi beviteli értékeinek (ng/ttkg/nap) összehasonlítását a tipegők és a felnőttek korcsoportjának eredményeivel végeztem el.

Mindkét korcsoport medián, átlag és 97,5. percentilis eredményei esetében, a determinisztikus és a 2D Monte Carlo becslés egymáshoz nagyon közel álló értékeket eredményezett. Az átlagok között egyik módszerrel sem adódott szignifikáns különbség a többihez képest. A probablisztikus I. módszer esetében a medián értékek alacsonyabbnak, a 97,5. percentilis értékek magasabbnak bizonyultak a többinél. Valószínűsíthető, hogy ez a véletlen visszatevéses módszer jellegéből fakad, mivel ez a fajta becslés az eloszlás két végét „felerősíti”.

A determinisztikus becslések általában konzervatívabb (pesszimistább) becslést eredményeznek a probablisztikus módszereknél. Jelen esetben nem figyelhetünk meg magasabb determinisztikus expozíciós eredményeket, ami valószínűleg annak köszönhető, hogy az AFM1 koncentráció adatokat nem hagyományosan az AFM1 mérési eredmények átlagával (LOQ alatti eredmények pedig az LOQ értékén) vettem figyelembe, hanem a probablisztikus módszerek előkészítési lépéseként, lognormális eloszlás segítségével generált adatok átlagával számoltam. Ez így valójában egy szemi-parametrikus becslésnek tekinthető.

3.3.5 A 2D Monte Carlo módszerrel, Box-Cox t és lognormális AFM1 eloszlással számított eredmények összehasonlítása

A 2D Monte Carlo módszerrel, két különböző eloszlással (Box-Cox t és lognormális) számított eredmények összehasonlításához a 2018-2020-as (EU MENU) felmérés tipegő és felnőtt korcsoportjainak adatait választottam.

A két különböző illesztett eloszlás segítségével számított expozíciók nagyjából azonos tartományba esnek, azonban a lognormális eloszlással számolt értékek szélesebb bizonytalansági tartományt fednek le. A különbségek a felhasznált valószínűségi eloszlások jellegéből, valamint az illesztések jóságának eltéréseiből fakadhatnak.

A tipegők korcsoportjának expozíció eloszlását jellemző átlag, medián és a hozzá tartozó 2,5. és 97,5. percentilis értékeket számszerű formában az alábbi (1. és 2. táblázat) táblázatok foglalják össze. Segítségükkel összehasonlítható a BCT és LogNorm eloszlásokkal számított expozíciók tartománya. Az átlag és a medián értékek különbségei mutatják a becslés aszimmetriáját, jelezve, hogy az eloszlás a kis értékek felé elnyújtott.

1. táblázat: A tipegők korcsoportjának BCT eloszlással, 2D Monte Carlo módszerrel számított átlag, medián és a hozzá tartozó 2,5. és 97,5. percentilis becslések különböző statisztikái.

BCT Tipegők	átlag	szórás	min	1%	2,5%	25%	50%	75%	97,5%	99%	max
medián	0,134	0,076	0,002	0,007	0,011	0,068	0,129	0,200	0,260	0,263	0,265
átlag	0,161	0,091	0,003	0,008	0,013	0,082	0,156	0,240	0,313	0,316	0,319
2,5%	0,093	0,053	0,002	0,005	0,007	0,047	0,090	0,139	0,181	0,183	0,185
97,5%	0,400	0,227	0,007	0,020	0,031	0,203	0,387	0,597	0,777	0,785	0,793

2. táblázat: A tipegők korcsoportjának lognormális eloszlással, 2D Monte Carlo módszerrel számított átlag, medián és a hozzá tartozó 2,5. és 97,5. percentilis becslések különböző statisztikái.

LogNorm Tipegők	átlag	szórás	min	1%	2,5%	25%	50%	75%	97,5%	99%	max
medián	0,157	0,090	0,003	0,005	0,007	0,076	0,161	0,230	0,310	0,313	0,320
átlag	0,187	0,107	0,003	0,006	0,009	0,090	0,191	0,274	0,369	0,372	0,381
2,5%	0,051	0,029	0,001	0,002	0,002	0,025	0,052	0,075	0,101	0,101	0,104
97,5%	0,488	0,281	0,008	0,016	0,023	0,235	0,500	0,715	0,965	0,972	0,996

A tipegők lognormális eloszlással modellezett expozíciójának medián, átlag és 97,5. percentilis értékei kissé magasabbak a BCT eloszlás azonos értékeinél, a 2,5. percentilis értékei viszont alacsonyabbak a lognormálisnál.

Mivel ez a két felhasznált eloszlás jellemezte legjobban a bemeneti adatokat, összességében nem lehet megállapítani, hogy az egyik vagy a másik eredményez a valóságot jobban közelítő becslést, azonban az eredmények hasonlóságából arra következtethetünk, hogy a valós kitétségi értékek a két eredmény által közösen lefedett tartományba esnek.

3.4 Az AFM1 bevitelből fakadó kockázat jellemzése

A kockázat jellemzéséhez háromféle kiértékelési módszert alkalmaztam. A nemzetközi gyakorlatban mindegyik módszer elfogadott, habár a veszélyességi index és az expozíciós tőrés határ (MoE) megközelítés alkalmazása némileg ellentmond annak a ténynek, hogy a genotoxikus és karcinogén vegyületek esetében nem állapítható meg biztonsággal tolerálható napi beviteli érték.

Mégis mind a két módszer megállapít egy bizonyos szintet, amelyhez képest egyes aflatoxin beviteli mennyiségeket kockázatosabbnak ítélt meg, másokat kevésbé kockázatosnak. Mindenesetre, mivel a becsült napi beviteli értékek (EDI) önmagukban nem szolgáltatnak elég információt annak megítéléséhez, hogy az expozíció mértéke alacsonynak vagy magasnak tekinthető, ezek a módszerek segítséget nyújtanak a kockázat mértékének megítélésében.

3.4.1 A kockázat jellemzése a veszélyességi index (HI) értékek alapján

Az expozícióbecslések eredményét (EDI) elosztva a biztonságos dózissal, egy dimenzió nélküli arányszámot kapunk eredményül. A kockázatok mértéke a kapott eredményekkel egyenesen arányos és 1 vagy annál nagyobb értékek esetén minősülnek aggályosnak. A 2018-2020-as élelmiszerfogyasztási felmérés fogyasztási adataival végzett determinisztikus becslések eredményeit használtam a korcsoportok HI értékeinek összehasonlításához (3. táblázat).

3. táblázat: A determinisztikus becsléssel számított értékekből származtatott HI átlag és 97.5. percentilis eredményeinek összehasonlítása korcsoportonként. A magas kockázati értékeket félkövér számokkal jelöltem.

2018-2020	Tipegők	Gyermekek	Serdülők	Felnőttek	Idősek
DET HI Átlag	1,0	0,7	0,3	0,2	0,2
DET HI P97,5	2,8	1,9	0,8	0,6	0,4

Megjegyzés: DET: determinisztikus becslés, HI: Hazard Index, veszélyességi index

A korcsoportok becsült napi beviteli értékeinek átlagából és 97,5. percentilis értékeiből számított HI értékek azt mutatják, hogy a serdülők, a felnőttek és az idősek korcsoportjának kitettségéből adódó kockázat nem minősül aggályosnak. Azonban a tipegők és gyermekek esetében a 97,5. percentilis értékek (nagy fogyasztók) esetében az expozíció jelentősen meghaladja a biztonságosnak tekinthető szintet. A fenti eredmények közül az egyik legfontosabb a tipegők átlagos bevitelét jellemző 1-es HI érték, mivel ez arra enged következtetni, hogy ennek a korosztálynak a jelentős hányada egészségügyi szempontból aggályos mértékű AFM1 expozíciónak van kitéve.

A fenti kiértékelést nem csak a determinisztikus, hanem a probablisztikus módszerekkel számított becsült napi beviteli értékek esetében is elvégeztem. A különböző módszerek eredményeiből számított HI értékek összehasonlítását a tipegők és a felnőttek példáján végeztem el.

A kapott eredmények megerősítik a fent levont következtetéseket. A tipegők korcsoportjának átlagos kitettségi értékei a három expozícióbecslési módszerből kettő esetében bizonyultak kockázatosnak, a 97,5. percentilis expozíció értékei pedig valamennyi módszer esetében 1 fölötti veszélyességi indexet eredményeztek. A probablisztikus I. módszer 97,5. percentilis számításával a felnőttek esetében is 1 fölötti HI érték adódott, azonban ismert,

hogyan ez a módszer a felső percentilisek esetében nagyon konzervatív becslést eredményez.

Az AFM1 bevitelből adódó kockázat jellemzésének másik lehetősége az expozíciós tűrőhatár értékelés (Margin of Exposure, MoE). Az aflatoxinok esetében, referencia értéknek a patkányokon végzett AFB1 indukált májrák vizsgálatokból származtatott BMDL₁₀ érték szolgálhat (400 ng/ttkg/nap), amelyet AFM1 esetében tízszeres szorzó tényezővel átszámítva használhatunk. Az eredmények 10 000 alatt számítanak aggályosnak, a 10 000 vagy annál nagyobb MoE közegészségügyi szempontból csekély kockázatra utal.

A 2018-2020 élelmiszerfogyasztási felmérés fogyasztási adataiból determinisztikus becsléssel számított kitétségi értékek expozíciós tűrőhatár értékelésének (MoE) átlag és 97.5. percentilis eredményeit korcsoportonként hasonlítottam össze.

Az expozíciós tűrőhatár értékelésből származó eredmények kevésbé aggasztó képet festenek, mint a veszélyességi index számítási módszerének kimeneti értékei. Az érdemi kockázatot kifejező határt (10 000) csak a típegők korcsoportjának 97,5. percentilis értékei érik el, illetve a gyermekek közül a „nagy fogyasztók” közelítik. A többi korcsoport esetében ezzel a kockázatjellemezési metodikával nem állapítható meg jelentős kockázat.

A 2018-2020-as élelmiszerfogyasztási felmérés fogyasztási adataiból determinisztikus és probabilisztikus módszerekkel kapott MoE eredmények összehasonlítása hasonló következtetésekhez vezet, a típegők és a felnőttek korcsoportjának átlagos beviteli értékei nem minősülnek kockázatosnak, míg a típegők esetében a 97,5. percentilis eredmények minden expozícióbecslési módszerrel a kritikus tartományba estek.

A kockázat jellemzésre alkalmazott harmadik módszer segítségével azt becsülhetjük meg, hogy az adott populáció átlagos és magas AFM1 beviteli értékei mennyivel járulnak hozzá a májrák (hepatocellular carcinoma, HCC) incidenciájához (HCCi), vagyis adott populációban adott időtartam alatt előforduló új esetek előfordulási gyakoriságához.

A HCC kialakulásának kockázatát az aflatoxin kitétség a krónikus hepatitis B előfordulása mellett sokszorosára növeli. Mivel a hepatitis B prevalenciája Magyarországon (és általánosságban Európában) alacsony, az aflatoxin indukált HCCi növekedése sem mutat magas értékeket. Ugyan a becsült májrák incidenciák számszerű értéke nagyon alacsonynak bizonyult, az

eredmények egymáshoz viszonyított értékei ebben az esetben is megmutatják a tipegők (0,00036-0,0023 megbetegedés/100 000 fő/év) és gyermekek (0,00026-0,0017 megbetegedés/100 000 fő/év) „nagy fogyasztóinak” kiemelt kockázatát a többi korcsoporthoz (0,000074-0,00039 megbetegedés/100 000 fő/év) viszonyítva.

3.5 A KNIME keretrendszerben kidolgozott integrált kockázatbecslési modell

A bemutatott eredmények számítási feladatainak elvégzésére egy a fogyasztási adatok feldolgozására, valamint a determinisztikus és probabilisztikus expozícióbecslésekre, továbbá a kapott eredmények alapján a kitettség jellemzésére alkalmas, integrált kockázatbecslési KNIME munkafolyamatot hoztam létre.

A modell két verzióban készült el, külön optimalizálva a két felhasznált fogyasztási felmérés adatstruktúrájára. A program jelenleg a tej és tejtermék adatok, valamint az AFM1 koncentráció adatok feldolgozására van kidolgozva, de kisebb módosításokkal bármilyen élelmiszer-élelmiszerszennyező kombinációra lefuttatható, illetve tovább bővíthető.

Az integrált kockázatbecslési modell négy modult tartalmaz, az első az élelmiszerfogyasztási adatok feldolgozására, a második a determinisztikus expozícióbecslés végrehajtására, a harmadik a probabilisztikus I. expozícióbecslés végrehajtására, a negyedik pedig a probabilisztikus II. expozícióbecslés végrehajtására szolgál. Az élelmiszerfogyasztási adatok feldolgozási moduljának kimeneti adatai (átlagos napi fogyasztási adatok) képezik az expozícióbecslések bemeneti adatait.

3.5.1 Élelmiszerfogyasztási adatok feldolgozása modul

Az élelmiszerfogyasztási adatok feldolgozási lépéseit tartalmazó modul első lépése a szükséges fogyasztási adatok, az élelmiszer kategorizálási adatok (FoodEx), valamint a feldolgozási faktorokat tartalmazó segéd tábla beolvasása. A következőkben adattisztítási és formázási lépések következnek, illetve a három beolvasott táblázat releváns adatainak összekapcsolása. Az EU MENU élelmiszerfogyasztási adatai FoodEx kóddal vannak ellátva, ezeket az FoodEx segéd tábla fordítja le élelmiszer megnevezésekre.

A feldolgozási faktorok a feloldott élelmiszer megnevezések segítségével társíthatók az élelmiszerfogyasztási adatokhoz, a továbbiakban az összesített adattábla ezen adatok mindegyikét tartalmazza.

A következő lépések során a modul az egyes fogyasztási napokra vonatkozó egyedi tejtermék beviteli értékeket a feldolgozási faktorok minimum, medián és maximum értékeinek figyelembevételével, három párhuzamos számítási sorozatban tej ekvivalensre átszámítva összesíti. A fogyasztási napok fogyasztónként összesített átlag értékeit kg/ttkg értékben kifejezve, továbbadja a modul az expozícióbecslési modulok felé. Az élelmiszerfogyasztási adatok feldolgozása három egyforma metanode-dal zárul. A metanode először korcsoportonként szétválasztja az adatokat, majd minden korcsoport fogyasztónként átlagolt fogyasztási adataiból leíró statisztikákat számít, majd az adatokat és a statisztikákat egy közös Excel tábla külön munkalapjaira írja ki.

3.5.2 Determinisztikus expozícióbecslés modul

Az első modul kimeneti adatait a determinisztikus expozícióbecslés modul beolvassa. Ezzel párhuzamosan az AFM1 adatokat is behívja (CSV Reader), majd azokról leíró statisztikákat készít, majd a kiszámított AFM1 átlag érték segítségével elvégzi az expozícióbecslését (az OIM módszertan szerint). A kiszámított értékeket egy metanode-ba vezeti.

A determinisztikus expozícióbecslés utolsó metanode-ja korcsoportonként szétválasztja az expozíció értékeket és minden korcsoport esetében kiszámítja a kockázatjellemzési metrikákat (MoE, HI, HCCi értékeket). Végül mind az expozíció értékeket, mind a kockázatjellemzési metrikákat korcsoportonként egy közös Excel tábla külön munkalapjaira exportálja.

3.5.3 Probabilisztikus I. expozícióbecslési modul

A modul első lépése az AFM1 adatok és a fogyasztási adatok beolvasása, utóbbiakat az első részfolyamat korcsoportonként szétválasztja. A koncentráció értékekből ezt követően véletlen visszatevéses mintavétellel 200 000 (vagy a mintavételi ciklusnál és a mintavételi elemszámnál megadott mennyiségű) random mintát vesz a program, a kapott adatbázisból leíró statisztikákat, relatív és kumulatív gyakorisági értékeket számol, majd ábrázolja a kapott gyakoriságokat.

Ezzel párhuzamosan a modul hasonlóképpen jár el a fogyasztási adatokkal is, majd mintázott koncentráció és fogyasztási adatokat összeszorozva végrehajtja az expozícióbecslést. A következő részfolyamat a kapott expozíció értékek leíró statisztikáit, valamint azok relatív és kumulatív gyakorisági értékeit számolja ki, majd az eredményeket interaktív relatív és kumulatív gyakorisági diagramon ábrázolja. A modul utolsó lépései a

kockázatjellemezési metrikák kiszámítása, majd a kapott eredmények Excel fájlba exportálása.

3.5.4 Probabilisztikus II. expozíció becslési modul

Az utolsó, probabilisztikus II. expozícióbecslési modul négy részfolyamatból áll. Az első részfolyamat az előző modulokkal teljesen megegyezően, a szükséges adatok beolvasása és a korcsoportok szétválasztása. A következő lépés a vizsgált eloszlások illesztése az LOQ feletti AFM1 adatokra, valamint az illesztés jóságának vizsgálata, a kapott hisztogramokat és Q-Q plotokat kép formátumban exportálja a modul.

A következő részfolyamatban a második részfolyamat során kiválasztott eloszlásokat a teljes (LOQ alatti értékeket is tartalmazó) adatsorra illesztjük, az illesztés jóságának vizsgálatát újra elvégezzük. Optimális esetben az illesztés jóságát leíró paraméterekben pozitív változást figyelhetünk meg.

A probabilisztikus II. expozícióbecslés utolsó részfolyamata a Monte Carlo szimuláció lefuttatása a kiválasztott eloszlásokkal, az egyes fogyasztói korcsoportok adataival. A szimuláció eredménye a vizsgált populációk várható expozícióját jellemző kumulatív gyakorisági grafikon, valamint a variabilitást jellemző percentilis értékeket tartalmazó táblázat. A probabilisztikus II. expozícióbecslés során alkalmazott számítási lépések, az R statisztikai szoftverre írt programcsomagok felhasználásával, azok KNIME keretrendszerbe történő integrálási lehetőségének kihasználásával végeztem el.

4 KÖVETKEZTETÉSEK ÉS A JAVASLATOK

Az EFSA 2020-as kockázatbecslésében felhívta a figyelmet arra, hogy mind az aflatoxin B1, mind az aflatoxin M1 tekintetében aggasztóak az expozíció eredmények, különösen a fiatal korosztályok esetében. Mivel a jelentés nem tartalmazott részletes információt a magyar fogyasztók kitétségi kapcsolatban, ezért fontosnak tartottam, hogy a megfelelő módszerek használatával a lehető legpontosabban megbecsüljem a hazai aflatoxin expozíciót.

A kapott eredményeket az európai adatok, valamint a korábbi, olaszországi kollaboráció eredményeinek tükrében vizsgálva (4. táblázat) megállapítható, hogy a magyar fogyasztók expozíciós mintázata, vagyis a korcsoportok egymáshoz viszonyított kitétsége követi az EFSA által számított és az olasz adatokon alapuló eredményeket. Az expozíció adatok alapján a

magyarországi fogyasztók AFM1 kitettsége alacsonyabb, mint az EFSA által számított, és az olasz fogyasztók eredményeinek átlagos és 95. percentilis AFM1 kitettségi értékei.

4. táblázat: A 2018-2020-as determinisztikus módszerrel számított átlagos és 95. percentilis kitettségi értékek (ng/ttkg/nap) az EFSA 2020-as és az olaszországi AFM1 expozíció számítások eredményeivel összehasonlítva

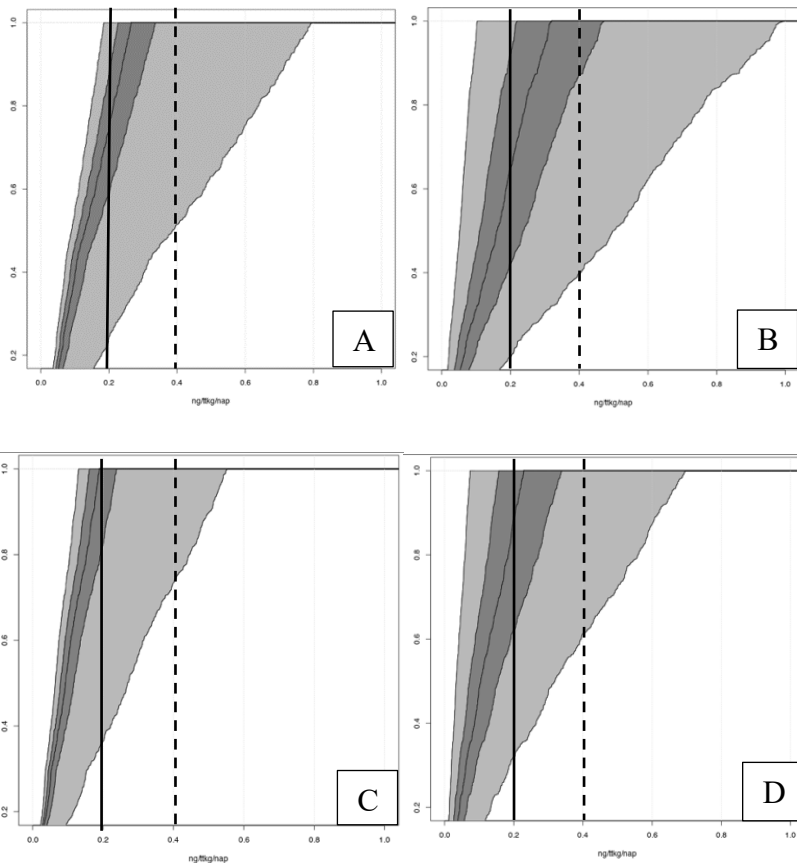
	Csecsemők	Tipegők	Gyermekek	Serdülők	Felnőttek	Idősek
EFSA 2020 Átlag	0,69	0,86	0,43	0,19	0,1	0,1
OO 2018 Átlag	0,33	0,28	0,10	0,04	0,03	0,03
MO 2020 Átlag	?	0,19	0,14	0,06	0,04	0,03
EFSA 2020 P95	1,77	1,82	1,03	0,47	0,57	0,28
OO 2018 P95	0,88	0,63	0,19	0,07	0,07	0,05
MO 2020 P95	?	0,44	0,33	0,13	0,10	0,07

Megjegyzés: OO: olaszországi eredmények, MO: magyarországi eredmények, P95: 95. percentilis kitettségi értékek

Fontos megjegyezni, hogy mindkét viszonyítási alapul szolgáló felmérés esetében a csecsemők korosztálya is bekerült a kockázatbecslésbe (ezt a korcsoportot a 2018-2020-as felmérés nem vizsgálta) és kapott expozíció értékeik közelítik, bizonyos esetekben meg is haladják a tipegők korcsoportjának eredményeit, ami arra enged következtetni, hogy a magyarországi csecsemők is a veszélyeztetett populációs csoportok közé tartoznak, azonban ezt nem áll módunkban megbízható becslést eredményező adatokkal alátámasztani.

A jelenlegi adatokra támaszkodva a tipegők korcsoportjára vonatkozóan, illetve a kisgyermekek közül a nagy mennyiségű tej és tejterméket fogyasztók esetében nagy biztonsággal megállapítható, hogy AFM1 bevitel szempontjából egészségügyi kockázatnak vannak kitéve.

A korábban bemutatott, Monte Carlo módszerrel számított expozíció eredmények és a kockázat jellemzéséhez használt HI és MoE metrikák kombinációjával érzékeltetem, hogy ennek a két korcsoportnak mekkora hányada minősül veszélyeztetettnek.



1. ábra: A 2018-2020-as fogyasztási felmérések tipegők (A, B) és kisgyermekek (C, D) korcsoportjának két féle eloszlás alapján (BCT bal oldalon, LogNorm jobb oldalon), 2D Monte Carlo módszerrel becsült AFM1 expozíció kumulatív gyakorisági eloszlásai a HI (folyamatos vonal) és MoE (szaggatott vonal) küszöbértékek feltüntetésével.

Az 1. ábrán a tipegők és a kisgyermekek korcsoportjának Box-Cox t- és lognormális AFM1 eloszlással számított kumulatív eloszlási gyakorisági eloszlásain feltüntettem a HI számításhoz alkalmazott 0,2 ng/ttkg/nap-os (bal oldali függőleges vonal), valamint a 10 000 MoE értéket eredményező 0,4 ng/ttkg/nap (szaggatott vonal) kockázati küszöböket. A két diagram jól érzékelteti a tipegő és kisgyermek korosztály kitétségeinek eloszlását és egyben lehetőséget biztosít a kockázat mértékének megítélésére.

Tekintve, hogy az aflatoxinok toxicitása elsődlegesen a fejlődő szervezeteknél jelent egészségügyi kockázatot, különös figyelmet kell fordítani az expozíciójuk csökkentésére, lehető legalacsonyabb szinten tartására.

Hangsúlyozzuk azonban, hogy a rákkeltő vegyületek jelenlétét minden korcsoportban a lehető legalacsonyabb szinten kell tartani.

Mivel megfelelő számú vizsgálati eredményt a tejben mért aflatoxin M1 koncentrációk szolgáltatnak, származtatott adatok segítségével becsültem a tej és tejtermékek beviteléből adódó kitétséget. Figyelembe véve, hogy már ezek a részeredmények is azt mutatják, hogy a magyar lakosság bizonyos korcsoportjai magasabb expozíciónak vannak kitéve, mint a – jelenlegi értékelési módszerekkel megítélhető módon – biztonságosnak mondható szint, ezt egyfajta indikátornak tekinthetjük és emiatt mindenképpen érdemes a jövőben kiterjeszteni a kitétség becslését a tízszer toxikusabb AFB1-re, az AFB1 szempontjából releváns élelmiszerek koncentráció értékeinek és fogyasztási adatainak elemzésével, továbbá a különböző aflatoxinok kumulatív kockázatbecslése is tanulságos eredményeket szolgáltathat.

Mindezekhez azonban megfelelő mennyiségű és minőségű adatra van szükség az aflatoxinok szempontjából releváns egyéb élelmiszerekre (pl. feldolgozott gabona alapú termékek, aszalt gyümölcsök, fűszerek stb.) vonatkozóan. A szakirodalmi adatok rámutatnak, hogy a kitétség becsléséhez a monitoring vizsgálati eredmények felhasználásánál pontosabb információt szolgáltatnak a teljes étrendi felmérések, ezért amennyiben erre lehetőség nyílik, javaslok egy országos, reprezentatív teljes étrendi felmérés kivitelezését, amely megfelelő érzékenységű (HPLC- MS/MS) analitikai módszerek alkalmazása esetén több, élelmiszerbiztonsági szempontból aggályos szennyezőanyag, köztük valamennyi, élelmiszerekben előforduló mikotoxin szintjének együttes vizsgálatát tenné lehetővé.

Az éves monitoring vizsgálatok eredményeinek tanúsága szerint, a jogszabályban eltűrhető maximális szintet 10-15-ször meghaladó szennyezettségű tejek is forgalomba kerülnek. Különösen veszélyeztetett csoportba tartoznak azok a személyek, akik rendszeresen olyan, azonos forrásból származó tejet fogyasztanak, ahol az állatokat aflatoxinnal szennyezett takarmánnyal etetik.

Az eredmények alapján indokoltnak tartom a legfiatalabb korosztályok védelmét célzó, a tej- és tejtermékláncba bekerülő aflatoxin mennyiségét csökkentő intézkedések bevezetését.

Mivel nincs olyan nagy léptékben alkalmazható eljárás, amellyel tökéletesen lehet eliminálni az aflatoxinokat az élelmiszerláncból, továbbra is a prevenció a legfontosabb. Nagy hangsúlyt kell fektetni az *Aspergillus* fertőzés általános visszaszorítására, propagálni szükséges a penészgombák növekedését gátló és

az aflatoxin szint csökkentését célzó mezőgazdasági, tárolási és feldolgozási technológiák alkalmazását.

Ez egy komplex, az élelmiszerlánc valamennyi szereplőjének közreműködését igénylő feladat, amely a jó mezőgazdasági gyakorlatok alkalmazásával, a termőföldek megfelelő előkészítésével és kezelésével kezdődik. Ezt követi a penészgombáknak ellenálló hibridek kiválasztása, a termények aratása, szállítása és tárolása során tett intézkedések sora, amelyek megakadályozhatják a penészgombák elszaporodását (megfelelő hőmérsékleti és nedvességi szintek beállítása, a termények átválogatása, hántolása, fizikai kezelése). Nem utolsó sorban a takarmányozásra szánt gabonák, szilázs vagy más feldolgozott takarmány készítmények megfelelő tárolása, kezelése és aflatoxin tartalmának ellenőrzése, szükség szerint fizikai, kémiai vagy biológiai detoxifikálása.

A prevenció sikeressége, a tej szállítmányok megfelelősége a tejtermelő tehenészeti telepek és a tejtermelő üzemek szintjén is ellenőrizhető. A nyers tej aflatoxin M1 tartalmának detektálására kidolgozott mintavételi terv és korai előjelzési rendszer segítségével, az Olaszországban már a gyakorlatban bevált 20 ng/kg cselekvési küszöb alkalmazásával, hatékonyan előre lehet jelezni a szennyeződés mértékének emelkedését. A tejtermelő gazdaság a jelzés alapján a helyi körülményeknek megfelelő módon, például a takarmányozásban eszközölt intervenciók segítségével megelőzheti a jogszabályban meghatározott, eltűrhető maximális (50 ng/kg) AFM1 koncentráció elérését. Ezáltal csökkenthető a nagymennyiségű, aflatoxinnal szennyezett tejtételek felhasználása az elsődleges és másodlagos tejfeldolgozásban és ez következésképpen csökkentené a fogyasztók expozícióját.

Fel kell hívni a figyelmet arra is, hogy az 50 ng/kg AFM1 koncentráció jelzésére beállított ELISA kitek a detektálás bizonytalanságából adódóan, a $\leq 65-70$ ng/kg szennyezettségű tej tételt még az esetek 50%-ban megfelelőnek minősíthetik.

Az AFM1 expozíciónak leginkább kitett és egyúttal a legérzékenyebb csecsemők és kisgyermekcsoportja, de a teljes lakosság egészségének védelme érdekében javaslom a tejüzemek ellenőrzésének rendeleti módosítását. Ennek értelmében a tejüzemek a beszállított tejet kötelesek ≥ 20 ng/kg AFM1 szennyezettséget jelző ELISA kittel vizsgálni és az ezt meghaladó koncentráció detektálásakor a tejüzem minden esetben értesítse a tejtermelő gazdaságot, valamint a NÉBIH-t, és a továbbiakban a gazdaságból beszállított tej szennyezettségének napi ellenőrzésével kísérje

figyelemmel a szennyezés csökkentésére tett tejgazdasági intézkedés hatékonyságát.

Célszerű továbbá a fogyasztók expozíciójának rendszeres ellenőrzése a kidolgozott metodika szerint a legfrissebb aflatoxin vizsgálati eredmények felhasználásával.

A fogyasztók tájékoztatása, a változatos, kifogástalan minőségű termékeket tartalmazó étrend népszerűsítése mellett szükséges egy hatékony gazdasági érdekeltségi rendszer bevezetése is, amely – megfelelő gyakoriságú hatósági ellenőrzés mellett – a vállalkozói oldalról is támogatná a szennyeződött termékek csökkentésére irányuló törekvéseket.

5 ÚJ, TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK (TÉZISEK):

1. Matematikai egyenlettel definiáltam és a feldolgozási faktorok figyelembevételével kiszámítottam az aflatoxin M1 szempontjából releváns élelmiszerek fogyasztásából fakadó egy fogyasztási napra vonatkozó beviteli értékeket.
2. Kidolgoztam egy integrált, a magyar lakosság determinisztikus és probabilisztikus expozícióbecslésére alkalmas, feldolgozási faktorokat, valamint élelmiszerfogyasztási adatbázist magába foglaló modellt KNIME keretprogramban, amely a koncentráció adatok előkészítését követően alkalmazható eloszlások illesztésére, az eloszlás illesztés jóságának vizsgálatára, az eloszlást jellemző paraméterek segítségével 2D Monte Carlo szimuláció végrehajtására és bármely kémiai szennyező beviteléből származó kitettség becslésére.
3. Probabilisztikus és determinisztikus módszerekkel becsültem a magyar lakosság tej és tejtermékek fogyasztásából származó aflatoxin M1 expozícióját és megállapítottam, hogy a serdülők, felnőttek és idősek korcsoportjának krónikus AFM1 bevitel nem éri el, jelen ismereteink szerint az egészségügyi szempontból kockázatos mértéket, azonban a típegők korcsoportjának átlagos és nagy fogyasztóinak, valamint a kisgyermekek korcsoportjában a nagy fogyasztók tej és tejtermékek fogyasztásából származó AFM1 bevitel meghaladja az egészségügyi szempontból kockázatos mértéket.

Az értekezéshez kapcsolódó projekt, támogatás

A disszertációhoz kapcsolódó vizsgálatok a 2018-1.2.1-NKP-2018-00002 számú projekt keretében, a Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból biztosított támogatással, a 2018-1.2.1-NKP pályázati program finanszírozásában valósult meg.

6 AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

Impakt faktoros folyóiratban megjelent közlemények

Andrea Serraino, Paolo Bonilauri, **Kata Kerekes**, Zsuzsa Farkas, Federica Giacometti, Alessandra Canever, Angelo Vittorio Zambrini, Árpád Ambrus (2019) Occurrence of Aflatoxin M1 in Raw Milk Marketed in Italy: Exposure Assessment and Risk Characterization, *Frontiers in Microbiology*, 10:2516, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02516> / IF: 4.235

Kata Kerekes, Paolo Bonilauri, Andrea Serraino, Federica Giacometti, Silvia Piva, Angelo Zambrini, Alessandra Canever, Zsuzsa Farkas & Árpád Ambrus (2016) An effective self-control strategy for the reduction of aflatoxin M1 content in milk and to decrease the exposure of consumers, *Food Additives & Contaminants: Part A*, 33:12, 1840-1849 /IF: 2.34

Nem IF-os folyóiratban megjelent közlemények

Ambrus Árpád, Szenczi-Cseh Júlia, Griff Tamás, **Kerekes Kata**, Miklós Gabriella, Vásárhelyi Adrienn, Szigeti Tamás János (2020) Élelmiszereink mikotoxin és növényvédőszer-maradék szennyezettségének élelmiszerbiztonsági megítélése, 1. rész. Növényvédőszer-maradékok; *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, 66:1, 2772-2789

Kerekes Kata, Csorba Szilveszter, Ambrus Árpád (2021) A magyar fogyasztók krónikus aflatoxin M1 expozíciója; *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, (Megjelenés alatt)

Hazai és nemzetközi konferencia kiadványok, előadások

Kerekes Kata, Dr. Farkas Zsuzsa, Dr. Ambrus Árpád. Korai előrejelzési rendszer a tej aflatoxin M₁ tartalmának detektálására. Szent István Egyetem *Mikotoxin-fórum*. Budapest, 2018. október 2.