

PRIRODNA KONTAMINACIJA DEOKSINIVALENOLOM (VOMITOKSINOM) KUKURUZA RODA 1999. GODINE

NATURAL CONTAMINATION OF MAIZE CROP 1999 WITH
DEOXYNIVALENOL (VOMITOxin)

M. Mitak, Manuela Zadravec, V. Karačić

Izvorni znanstveni članak
UDK: 636.085.19.
Primljen: 15. travanj 2002.

SAŽETAK

Tijekom 2000. godine pretraženo je, imunoenzimnim testom, na sadržaj deoksinivalenola 28 uzoraka kukuruza roda 1999. godine, podrijetlom s više područja Republike Hrvatske koji su predstavljali oko 1200 tona kukuruza.

Deoksinivalenol je utvrđen u 18 uzoraka (64,29%) u koncentracijama od 30 do 2000 (ili više) ppb. Međutim, tek 8 uzoraka (28,57%) sadržavalo je deoksinivalenola u koncentracijama koje su mogle izazvati promjene zdravstvenog stanja u svinja. Koncentracija mikotoksina daljnjam razrjeđivanjem prilikom komponiranja krmnih smjesa još se smanjuje i tako se može govoriti o pretežito subtoksičkim i subakutnim intoksikacijama deoksinivalenolom.

Istraživanje upućuje na učestalu kontaminaciju kukuruza roda 1999. vomitoksinom te vjerojatno i drugim fuzarijskim mikotoksinima koji međusobno mogu povećavati toksički učinak, te se predlaže obvezatni monitoring žitarica na sadržaj fuzarijskih mikotoksina, uz dopunu kromatografskim metodama u analitici.

UVOD

Suvremene tehnologije u proizvodnji žitarica nude uvjete koji pogoduju razvoju pljesni te tako i tvorbi mikotoksina (Pepelnjak i sur., 1979.; Kišpatić 1985.).

Prilike umjerenih klimatskih područja pogoduju razvoju pljesni roda *Fusarium* te u tim područjima prevladavaju fuzarijski mikotoksi (Wood, 1992.), tako je i u našim područjima kontaminacija "pljesnima polja" redovita pojava, posebice u kišnim godinama. U dosadašnjim je istraživanjima dokazano kako se kontaminacija pljesnima roda *Fusarium* i fuzarijskim mikotoksinima kreće od uobičajenih 20% (Munk i Topolko, 1978.; Mitak, 1993.; Pavičić i sur., 1999.; Mitak, 2000.) do čak 82% uzoraka kukuruza (Kralj i sur., 1988.).

Deoksinivalenol (DON, vomitoksin) pripada u skupinu trihotecena, veoma često se može naći u žitaricama, uglavnom zajedno s 3-acetildeoksinivalenolom i 15-acetildeoksinivalenolom (Pathre i Mirocha, 1978.; Marpegan i sur. 1988.; Birzele i sur. 2000.; Fazekas i sur., 2000.).

Mikotoksi i njihovi derivati, najčešće u svinja, irritiraju sluznicu probavnog trakta uz pojavu pojačanog slinjenja, odbijanja hrane te povraćanje (Vesonder i sur., 1979.). Takva karakteristična klinička slika rezultira odbijanjem hrane, ili smanjenim unosom hrane, odnosno povraćanjem uzete hrane. Djelatna količina toksina je prema podacima u literaturi

Dr. sc. Mario Mitak, dr. sc. Manuela Zadravec, Hrvatski veterinarski institut - Odjel za kontrolu krmiva i hranidbu, Zagreb Savska c. 143; dr. sc. Veseljko Karačić, "Poljoprerada" d.d. Zagreb, Remetinečka c. 77, Hrvatska - Croatia.

dvojbena, jer su životinje odbijale hranu s 0,5 mg/kg vomitoksiна (Bergsjo i sur., 1992.), 0,3 do 0,7 mg/kg nije izazvao ozbiljnije posljedice osim smanjenog uzimanja hrane (Trenholm i sur., 1983.), ali sličan učinak kod prasadi ima i količina od 2 mg/kg (Trenholm i sur., 1984.), s time da prirodno stvoreni mikotoksin ima bolji učinak od pročišćenog (Prelusky i sur., 1994.).

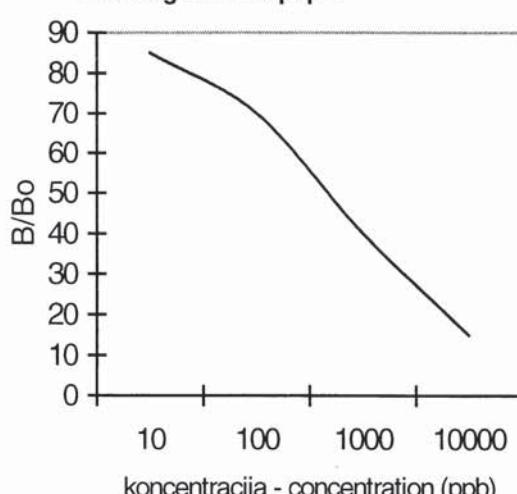
Cilj ovog istraživanja je otkrivanje prirodne kontaminacije deoksinivalenolom kukuruza uzgojenog u Republici Hrvatskoj, upotrebom imunoenzimne metode (ELISA).

MATERIJAL I METODE

Uzorci kukuruza u zrnu roda 1999. sakupljeni su od prosinca 1999. do rujna 2000. na kontinentalnom dijelu Hrvatske, te uzastopno pretraživani na sadržaj deoksinivalenola. U detekciji mikotoksina korišteni su komercijalni pripravci tvrtke "TECNA", Trst, Italija. Pripravak sadrži sve potrebne sastojke za izvedbu testa u žitaricama i njihovim proizvodima. Deoksinivalenol se ekstrahira vodom, pročisti centrifugiranjem te pretraži imunoenzimnim postupkom. Intenzitet boje obrnuto je proporcionalan koncentraciji deoksinivalenola. Od rezultata izmjerениh standarda adsorpcije (pri valnoj dužini od 450 nm) načini se kalibraciona krivulja (slika 1) pomoću koje se određuje koncentracija deoksinivalenola u uzorcima. Osjetljivost testa kreće se između 30 do 2000 ng/ml (ppb).

Slika 1. Shematski prikaz kalibracijske krivulje na semilogaritamskom papiru

Fig. 1. Schematic survey of calibration curve on semilogarithmic paper



REZULTATI I RASPRAVA

Nije bilo razlike u koncentraciji mikotoksina s obzirom na geografsko područje kukuruza, niti na razdoblje u kojem je uzet uzorak, te kad je napravljana pretraga.

Tablica 1. Sadržaj deoksinivalenola u uzorcima kukuruza roda 1999.

Table 1. Deoxynivalenol content in maize 1999 crop samples

Redni broj - No	Oznaka uzorka Sample mark	Deoksinivalenol (ppb) Deoxynivalenol
1.	269	ne sadrži* - no content*
2.	196	720
3.	161	1585
4.	234	240
5.	334	ne sadrži - no content
6.	217	375
7.	245	170
8.	246	190
9.	179	1040
10.	256	155
11.	273	ne sadrži - no content
12.	244	200
13.	246	190
14.	213	425
15.	257	150
16.	194	990
17.	192	850
18.	114	>2000
19.	259	ne sadrži - no content
20.	200	1200
21.	147	>2000
22.	213	430
23.	376	ne sadrži - no content
24.	335	ne sadrži - no content
25.	286	ne sadrži - no content
26.	295	ne sadrži - no content
27.	357	ne sadrži - no content
28.	353	ne sadrži - no content

*koncentracija <30 ppb - concentration <30 ppb

Rezultati pretrage na deoksinivalenol (tablica 1) pokazuju kako čak 18 od 28 uzoraka sadrži mikotoksin (64,23%).

Međutim, tek u 8 (28,57%) uzoraka kocentracija se kreće od 0,7 do >2,0 ppm, odnosno količina koja bi kod svinja mogla izazvati vidljive poremećaje zdravstvenog stanja (Trenholm i sur. 1983.).

U sklopu monitoringa mikotoksina u kukuruzu domaćeg uzgoja uporabom samo imunoenzimnog postupka orijentacijski se rnože govoriti o pretežito subtoksičkim dozama i subakutnim intoksikacijama deoksinivalenolom. Koncentracija mikotoksina tijekom komponiranja krmnih smjesa još se smanjuje i tako se može reći kako nađene koncentracije u tek nekoliko slučajeva mogu izazvati karakterističnu sliku otrovanja deoksinivalenolom, bez obzira na visoku učestalost mikotoksina u kukuruzu.

LITERATURA

1. Bergsjo, B., T. Matre, I. Nafstad (1992): Effects of diets with graded levels of deoxynivalenol on performance in growing pigs. *G. of Vet. Med.* 39, 752-758.
2. Birzele, B., A. Prange, J. Kramer (2000): Deoxynivalenol and ochratoxin A in German wheat and changes of level in relation to storage parameters. *Food Addit. Contam.* 17, 1027-1035.
3. Fazekas, B. E., T. Hajdu, A. K. Tar, J. Tanyi (2000): Natural deoxynivalenol (DON) contamination of wheat samples grown in 1998 as determined by high-performance liquid chromatography. *Acta Vet. Hung.* 48, 151-160.
4. Kišpatić, J. (1985.): Mikotoksići fusarium vrsta. Seminar za zaštitu bilja (Opatija 20-21. 01. 1985.), Zbornik radova. Zagreb 1985, 481-487.
5. Kralj, M., Z. Biđin, Ankica Nemančić (1988.): Skupni prikaz sindroma otrovanja mikotoksinima prema podacima iz literature s naročitim osvrtom na pojavu u peradi. *Peradarstvo*, 23, 215-265.
6. Marpegan, M. R., C. J. Perfumo, H. M. Godoy, M.S. De Miguel, E. Diaz, M. A. Risso (1988): Feed refusal of pigs caused by Fusarium mycotoxins in Argentina. *J. Vet. Med. A.* 35, 610-616.
7. Mitak, M. (1993.): Prirodna kontaminacija mikotoksinom zearalenonom i mogućnosti brzog dokazivanja u terenskim uvjetima. *Vet. stanica* 24, 139-148.
8. Mitak, M. (2000.): Nalaz zearalenona u krmivima i krmnim smjesama za svinje od 1990. do 1999. godine. *Zbornik radova 2. hrvatski veterinarski kongres, Cavtat 10.-13.-10. 2000.* 483-488.
9. Munk, M., S. Topolko (1978.): Ispitivanje frekfencije mikotoksina u krmivima. *Krmiva*, 20, 95-96.
10. Pavičić, Perica, Vlasta Brlek, Ankica Nemančić (1999.): Učestalost fuzarijskih mikotoksina u krmnim smjesama 1989. - 1998. *Krmiva* 41 (4) 183 - 189.
11. Pathre, S. V., C. J. Mirocha (1978): Analysis of deoxynivalenol from cultures of *Fusarium* species. *Appl. Env. Microbiol.* 35, 992-994.
12. Pepeljnjak, S., S. Čuturić, S. Topolko, M. Munk (1979.): Faktori koji utječu na stvaranje mikotoksina kod kukuruza. *Krmiva*, 5 109-112.
13. Prelusky, D. B., R. G. Gerdes, K. L. Underhill, B.A. Rotter, P. Y. Jui, H. L. Trenholm (1994): Effects of low-level dietary deoxynivalenol on hematological and clinical parameters of the pig. *Nat. Toxins* 2, 97-104.
14. Prelusky, D. B., R. B. Gerdes, K. L. Underhill, B. A. Rotter, P. Y. Jui, H. L. Trenholm (1994.): Effects of low-level dietary deoxynivalenol on hematological and clinical parameters of the pig. *Nat. Toxins* 2, 97-104.
15. Trenholm, H. L., W. P. Cochrane, H. Cohen, J. I. Elliot, E. R. Farnworth, D. W. Friend, R. M. G. Hamilton, J. F. Standish, B. K. Thompson (1983): Survey of vomitoxin contamination of 1980 Ontario white winter wheat crop: results of survey and feeding trial. *J. Assn. Off. Anal. Chem.* 66, 92-97.
16. Vesonder, R. F., A. Ciegler, H. R. Burmeister, A. H. Jensen (1979): Acceptance by swine and rats of corn amended with trichotecenes. *Appl. Env. Microbiol.* 38, 433-436.
17. Wood, G. E. (1992): Mycotoxins in foods and feeds in US. *J. Anim. Sci.* 70, 3941-3949.

SUMMARY

In the year 2000 28 samples, amounting to about 1200 tons of maize crop 1999 originating from several areas of the Republic of Croatia were immunoenzymatically tested for the deoxynivalenol content. Deoxynivalenol was found in 18 samples (64.29%) in concentrations from 30 to 2000 (or more) ppb. However, only 8 samples (28,57%) contained deoxynivalenol in concentrations which could cause health changes in pigs.

Mycotoxin concentrations by further dilution in composing feed mixtures decreases further and we can talk about mostly subtoxic and subacute intoxications with deoxynivalenol.

The investigation indicates frequent maize crop 1999 contamination with vomitoxin and probably with other fusarium mycotoxins which can reciprocally increase the toxic effect. Thus, obligatory monitoring of cereal fusarium mycotoxins is suggested supplemented with Chromatographie analytical methods.