

TOKSINI FUSARIUM PLIJESNI I DRUGI TOKSINI (I. DIO)

Katalenić¹, M.

SAŽETAK

Mikotoksini u malim količinama predstavljaju opasnost za zdravlje ljudi i životinja. Današnje precizne analitičke metode, toksikološka ispitivanja mikotoksina, ciljano praćenje unosa pojedinih mikotoksina, samo potvrđuju potencijalni rizik za zdravlje. Nedovoljan broj epidemioloških ispitivanja u nas o povezivanju mikotoksina s posljedicama po zdravlje ljudi i životinja kao i o sinergističkom djelovanju raznih mikotoksina, ostavlja otvorena brojna pitanja. Unos mikotoksina ispod tolerantne dnevne količine ne znači i smanjenu opasnost po zdravlje čovjeka i životinja, posebno i zbog drugih štetnih tvari koje se mogu naći uz mikotoksine. *Fusarium* plijesni uništavaju značajne količine žitarica prije žetve i tijekom stavljanja u silose. Njihovi toksini se ne svrstavaju u posebno toksične, ali su ipak u zadnje vrijeme posebno dobro ispitivani u EU. Na tom području Hrvatska mora organizirati pristupiti utvrđivanju količina mikotoksina u hrani i hrani za životinje uz dobro iskorištenje analitičkih kapaciteta, a za stvarnu procjenu rizika.

Gljučne riječi: mikotoksini, plijesni *fusarium* vrste, toksini *fusarium* plijesni

UVOD

Plijesni su sveprisutne u okolišu, primarno su saprofiti, a koriste organski materijal kao izvor hrane za reprodukciju i obranu. Toksini koji nastaju kao sekundarni metaboliti plijesni nazivaju se mikotoksinima i jedni su među inim toksičnim tvarima koje proizvode mikroorganizmi. Ljudi i životinje unose ih putem hrane, udisanjem ili preko kože (Peraica i sur., 1999).

Prema podacima koji se nalaze na stranicama Mycotoxin Awareness Network (EMAN), osnovanog od Europske komisije, Programa za kvalitetu života i upravljanje živim resursima, gruba procjena tijekom jedne godine je da 25 % biljaka koje se

koriste za hranu ljudi i životinja sadrži manje ili veće količine mikotoksina. Upravo zbog toga, provode se istraživanja novih analitičkih metoda za određivanje mikotoksina, ali i istraživanja prevencije stvaranja plijesni, a time i mikotoksina. Jedan od priznatih pristupa prevenciji je i holistički HACCP-pristup koji inače nije šire korišten u primarnoj proizvodnji, a naročito skladištenju. Drugi način je uporaba zaštitnih sredstava, pesticida s ciljanim učinkom, kao što je ove godine prvi puta korišten biopesticid Alfa-Guard razvijen u Agricultural Research Service (USA). Koristi se za sada za kikiriki, a smanjuje 70-90 % nastanak aflatoksina (*Aspergillus flavus* i *Aspergillus parasiticus*) nakon prvog te čak do 98 % nakon drugog apliciranja. Kako je ista plijesan prisutna i na kukuruzu, istraživanja se nastavljaju.

Mikotoksini su stabilni spojevi, tako da se u često nalaze i u gotovom proizvodu koji je prošao tehnološku obradu. Oni se rijetko mogu uništiti tijekom prerade, a češće se reduciraju i bolje rasporede po masi gotovog proizvoda. Uzimanje uzoraka predstavlja najslabiju kariku u lancu pri određivanju količine mikotoksina u namirnici, što umanjuje primjenu razvijenih analitičkih metoda, HACCP-a u primarnoj proizvodnji te kontrolu kvalitete provođenja procesa. Mikotoksini su nejednoliko raspoređeni po masi žitarica, kikirikija, pistacija, lješnjaka i sličnih proizvoda. Često 1-2 % mase proizvoda sadrži mikotoksine iznad dopuštene količine, tako da samo reprezentativan uzorak može otkriti mikotoksine i smanjiti rizik od greške pri određivanju u seriji ili lotu (Shelby i sur., 1994).

Tijekom hranjenja, plijesni ispuštaju enzime u hranjivu masu radi razgradnje složenih sastojka

¹Mr.sc. Marijan Katalenić, Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Rockefellerova 7, Zagreb

u jednostavne, pogodne za probavu. Probavljeni nutritijenti koriste se za stvaranje primarnih i sekundarnih metabolita. Primarni metaboliti sadrže celulozu i druge sastojke koji se koriste rast i reprodukciju plijesni, a sekundarni metaboliti, mikotoksini, se koriste za obranu od drugih mikroorganizama uključujući i druge plijesni.

Danas je poznato preko 200 spojeva koji se svrstavaju u mikotoksine od kojih su samo neki toksikološki ispitani te njihov utjecaj na zdravlje ljudi

▼ **Tablica 1.** Bolesti ljudi koje se povezuju s unošenjem toksičnih količina mikotoksina (Izvor: <http://www.mould>)

sustav	zdravstveni problemi	mikotoksini
krvožilni sustav	smanjena elastičnost žila, unutrašnja krvarenja	aflatoksini saratoksini roridini
digestivni sustav	proljev, povraćanje, krvarenje iz crijeva, oštećenje jetre, nekroze, fibrioze, rane na mukoznim membranama, anoreksija	aflatoksini T-2 toksini deoksinivalenol (vomitoksin)
respiratorni sistem	ozbiljne poteškoće s disanjem krvarenje iz pluća	trikotehekeni
živčani sustav	drhtavica, nekoordinirani pokreti, depresija, glavobolja	tremogeni trikotehekeni
koža	osip, osjet vrućine, fotosenzitivnost	trikotehekeni
urinarni sustav	oštećenje bubrega	ohratoksin citrinin
reproduktivni sustav	sterilnost, promjene u reproduktivnim ciklusima	T-2 toksin zearalenon
imunostav	promjene ili potpuno uništenje	mnogi mikotoksini

i životinja mora proći još dugačak put istraživanja. Najčešće spominjani mikotoksini su: aflatoksini, ohratoksin A, fumozini, trikoteken (deoksinivalenol, nivalenol, T-2 toxin), zearalenon, Alternaria toksini (AAL toksini, tenuazonska kiselina, alternarioli i alvertoksini), patulin i dr., a potpuni popis prikazan je u Prilogu 1.

Ipak, plijesni uvijek ne produciraju sekundarne metabolite, a kada produciraju, njihova se količina razlikuje od biljke do biljke. *Aspergillus flavus* koji raste na mnogim biljkama koje služe za hranu ljudi i životinja, producira više aflatoksina na kikirikiju nego na soji koja raste na susjednoj parceli i pod istim uvjetima. Mikotoksikoze su bolesti koje se vežu uz unošenje mikotoksina. U domaćih životinja uzrokuju alergijske reakcije, gubitak apetita, povraćanje, mršavljenje, smanjenje imuniteta, smanjenje iskorištenja/probavljivosti hrane, smanjenju reprodukciju i smrt. Zabilježeni su masovni pomori životinja u prošlosti, kao 1934. godine na Srednjem zapadu (USA) kada je više od 5000 konja uginulo od "bolesti uzrokovane kukuruznom plijesni" ili 1972. godine kada se pojavio problem odbijanja hrane kod svinja u Corn Belt-u (<http://www.nps.ars.usda.gov>). "X bolest purica" 1960. godine uzrokovala je pomor više od 100000 mladih purica i 20000 druge peradi. Veliki pomor peradi povezuje se s hranom na bazi kikirikija uvezenoj iz Brazila u kojoj su utvrđeni aflatoksini pa se taj datum smatra prekretnicom u snažnijem pristupu istraživanjima mikotoksina u modernoj povijesti (Peraica i sur., 1999). Općenito, aflatoksin B1 smatra se uzrokom kancerogenih promjena kod životinjama, tako da mlade životinja koje konzumiraju 50 - 100 g aflatoksina B1 po kg hrane oboljevaju od karcinoma jetre. Također, hrana koja nije dobro proteinski izbalansirana rezultira jačim učinkom aflatoksina na zdravlje životinja.

Trovanja mikotoksinima kroničari spominju već 943. godine kao "Vatra sv. Ante" uzrokovanu ergot alkaloidima nastalim razvojem plijesni *Claviceps purpurea* na žitarici raži (Peraica i sur., 1999). Citreoviridin je uzrok akutne srčane maligne bolesti a proizvode ga plijesni *Penicillium* na riži (toksin žute riže). Alimentarna toksična aleukija (ATA), povezana je s trihotekenima koje proizvode

plijesni *Fusarium* na pšenici, prosu i ječmu. ATA nije zabilježena godinama, ali je bila učestala između 1930. i 1940. godine u SSSR-u. Zanimljivo je da su žrtve "Vatre sv. Ante", ergotizma, bili izloženi i dietilamidu lisergične kiseline (LSD), halucinogenom sredstvu, nastalom pri pečenju kruha od pšenice koja je sadržavala ergot. Nekoliko mikotoksina povezuje se s porastom karcinoma kod ljudi a posebno su istaknuti aflatoksini, zearalenone, patulin, ohratoksin i fumonozini (Izvor: <http://www.mold>).

Aflatoksini se povezuju s primarnim karcinomom jetre, a dokazano je da je preko 100 ljudi u Indiji umrlo od posljedica konzumiranja pljesnivog kukuruza koji je sadržavao aflatoksine. Aflatoksini su bili nađeni u tkivima djece oboljele od Reyesovog sindroma i u kancerogenim lezijama debelog crijeva. U zavisnosti od godine i vremenskih prilika raste i količina aflatoksina u biljkama, tako da je u SAD-u 1977., 1980., 1983. i 1988. godine zabilježeno 20 g/kg i više aflatoksina B1 u kukuruzu. Poznato je da se konzumiranjem takve hrane isti pojavljuje kao M1 u mlijeku. Inače za aflatoksinski metabolit M1 u mlijeku tolerancija je 0 g. Poznato je da uz optimalne vrijednosti vlage u zraku i temperature okoliša, plijesni *Aspergillus flavus* proizvode manje količine aflatoksina već za 24 sata, a biološki značajne količine za par dana (<http://www.nps.ars.usda.gov>; <http://www.mold>). Ipak u SAD-u se kukuruz s 100 g aflatoksina može koristiti za hranidbu životinja koje ne daju mlijeko, a hrana životinja za klanje smije sadržavati 300 g (za goveda), odnosno 150 g

(svinje) aflatoksina. Te količine ne štete životinjama i ne prelaze u konačni proizvod, hranu za ljude, a mlijeko krava muzara, hranjenih hranom koja sadrži 20 g ili manje aflatoksina sadrži manje od 0,1 g aflatoksina. Općenito udio M1 metabolita je 1 % od količine aflatoksina koja se nalazi u hrani životinja. Ispitivanja pokazuju da 1 g metabolita M1 uzrokuje karcinom jetre i 50 %-tnu smrtnost kod eksperimentalnih životinja (štakora). Posebno je opasno sinergističko djelovanje više mikotoksina, čime se može pojaviti nekoliko indikacija u isto vrijeme, što otežava točno dijagnosticiranje (tablica 1).

Upravo zbog toga je važno da svaki proizvođač hrane za ljude ili hrane za životinje bude upoznat s rizikom koji dovodi do razvoja plijesni ali i o mogućnosti njihova dokaza analitičkim metodama kontrole proizvoda. Danas se koristi nekoliko vrsta analitičkih metoda za dokazivanje i određivanje mikotoksina. Neke od njih su komercijalni kitovi s priređenim reagensima, dok drugi slijede složene postupke ekstrakcije i instrumentalnog određivanja:

- ELISA testovi s određenim antitijelima, imunoafinitetne kolone,
- Kapilarna elektroforeza,
- Metoda s biosenzorima kojom se određuju toksini kao inenzitet svijetlo plave fluorescencije
- Kromatografske tehnike sa složenijim analitičkim instrumentima (GC-ECD, GC-MS, HPLC-DAD/FLD, LC-ACPI-MS) (Laboratories for Mycotoxin Analysis; <http://www.nps.ars.usda.gov>). ■

▼ Prilog 1. Sekundarni metaboliti različitih vrsta plijesni (Izvor: <http://www.mould>)

Mikotoksini	Plijesni
Acetoxyscirpenediol	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , and <i>F. nivale</i>
Acetyldeoxynivalenol	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , and <i>F. nivale</i>
Acetylneosolaniol	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , and <i>F. nivale</i>

Mikotoksini	Plijesni
Acetyl T-2 toxin	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , and <i>F. nivale</i>
Aflatoxin	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>
Aflatrem	<i>Aspergillus flavus</i>
Altenuic acid	<i>Alternaria alternata</i>
Alternariol	<i>Alternaria alternata</i>
Austdiol	<i>Aspergillus ustus</i>

Mikotoksini	Plijesni
Austamide	<i>Aspergillus ustus</i>
Austocystin	<i>Aspergillus ustus</i>
Avenacein ⁺¹	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. nivale</i>
Beauvericin ⁺²	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. nivale</i>
Bentenolide	<i>Monographella nivalis</i>
Brevianamide	<i>Aspergillus ustus</i>
Butenolide	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , and <i>F. nivale</i>
Calonectrin	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. nivale</i>
Chaetoglobosin	<i>Chaetomium globosum</i>
Citrinin	<i>Aspergillus carneus</i> , <i>A. terreus</i> , <i>Penicillium citrinum</i> , <i>P. hirsutum</i> , <i>P. verrucosum</i>
Citreoviridin	<i>Aspergillus terreus</i> , <i>Penicillium citreoviride</i>
Cochliodinol	<i>Chaetomium cochliodes</i>
Crotocin	<i>Acremonium crotocinigenum</i>
Cytochalasin E	<i>Aspergillus clavatus</i>
Cyclopiazonic acid	<i>Aspergillus versicolor</i>
Deacetylcalonectrin	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. nivale</i>
Deoxynivalenol diacetate	<i>Fusarium moniliforme</i> , and <i>F. nivale</i>
Deoxynivalenol monoacetate	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. nivale</i>
Diacetoxyscirpenol	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i>

Mikotoksini	Plijesni
Destruxin B	<i>Aspergillus ochraceus</i>
Enniatins	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. nivale</i>
Fructigenin ⁺¹	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i>
Fumagilin	<i>Aspergillus fumigatus</i>
Fumonisin B ₁ , B ₂ , B ₃	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. proliferatum</i> and <i>F. nivale</i>
Fusaric acid	<i>Fusarium moniliforme</i>
Fusarin	<i>Fusarium moniliforme</i>
Gliotoxin	<i>Alternaria</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Penicillium</i>
HT-2 toxin	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , and <i>F. nivale</i>
Ipomeanine	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , and <i>F. nivale</i>
Islanditoxin	<i>Penicillium islandicum</i>
Lateritin ⁺¹	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , and <i>F. nivale</i>
Lycomarasmin ⁺¹	<i>Fusarium moniliforme</i>
Malformin	<i>Aspergillus niger</i>
Maltoryzine	<i>Aspergillus spp.</i>
Moniliformin	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. nivale</i>
Monoacetoxyscirpenol	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. nivale</i>
Neosolaniol	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i>

Mikotoksini	Plijesni
Nivalenol	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. nivale</i>
NT-1 toxin	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. nivale</i>
NT-2 toxin	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. nivale</i>
Ochratoxin	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Penicillium viridictum</i>
Oxalic acid	<i>Aspergillus niger</i>
Patulin	<i>Aspergillus clavatus</i> , <i>Penicillium expansum</i> , <i>Botrytis</i> , <i>P. roquefortii</i> , <i>P. claviforme</i> , <i>P. griseofulvum</i>
Penicillic acid	<i>Aspergillus ochraceus</i>
Penitrem	<i>Penicillium crustosum</i>
Roridin E	<i>Myrothecium roridum</i> , <i>M. verrucaria</i> , <i>Dendrodochium</i> spp., <i>Cylindrocarpon</i> spp., <i>Stachybotrys</i> spp.
Rubratoxin	<i>Penicillium rubrum</i>
Rubroskyrin	<i>Penicillium</i> spp.
Rubrosulphin	<i>Penicillium viridicatum</i>
Rugulosin	<i>Penicillium brunneum</i> , <i>P. kloeckeri</i> , <i>P. rugulosum</i>
Sambucynin ⁺¹	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. nivale</i>
Satratoxins, F,G,H	<i>Stachybotrys chartarum</i> , <i>Trichoderma viridi</i>
Scirpentriol	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. nivale</i>
Slaframine	<i>Rhizoctonia leguminicola</i>

Mikotoksini	Plijesni
Sterigmatocystin	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>Penicillium rugulosum</i>
T-1 toxin	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. nivale</i>
T-2 toxin	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. nivale</i>
Triacetoxyscirpendiol	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. nivale</i>
Trichodermin	<i>Trichoderma viride</i>
Trichothecin	<i>Trichothecium roseum</i>
Trichoverrins	<i>Stachybotrys chartarum</i>
Trichoverrols	<i>Stachybotrys chartarum</i>
Tryptoquivalene	<i>Aspergillus clavatus</i>
Verrucarin	<i>Myrothecium verrucaria</i> , <i>Dendrodochium</i> spp., <i>Stachybotrys chartarum</i>
Verruculogen	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Stachybotrys chartarum</i>
Viopurpurin	<i>Trichophyton</i> spp., <i>Penicillium viridicatum</i>
Viomellein	<i>Aspergillus</i> spp., <i>Penicillium aurantiogriseum</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>P. viridicatum</i>
Viriditoxin	<i>Aspergillus fumigatus</i>
Xanthocillin	<i>Eurotium chevalieri</i>
Yavanicin ⁺¹	<i>Fusarium culmorum</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. nivale</i>
Zearalenone	<i>Fusarium culmorum</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. nivale</i>