

ZNAČAJ KONTROLE MIKOTOKSINA ZA LJUDSKU I ANIMALNU PREHRANU

THE IMPORTANCE OF MYCOTOXIN CONTROL FOR HUMAN AND ANIMAL NUTRITION

Amir Ibrahimagić*
Emilija Hrapović**

SAŽETAK

Direktnom ili indirektnom kontaminacijom, mikotoksini mogu ući u lanac ishrane ljudi i životinja. Pored štetnih efekata na zdravlje ljudi i životinja, mikotoksini mogu imati i značajan negativan ekonomski uticaj. Zbog svoje stabilnosti, mikotoksini se dugo zadržavaju u biljnim i životinjskim proizvodima i potencijalno su velika opasnost po zdravlje ljudi i životinja u mnogim zemljama svijeta, posebno u zemljama u razvoju. Stoga je glavni cilj ovog rada prikazati značaj kontrole mikotoksina kroz procese skladištenja, transporta i obrade uzoraka za ishranu ljudi i životinja. Prema dobijenim rezultatima, 52% uzoraka namijenjenih ljudskoj ishrani ne zadovoljava referentne vrijednosti. Mikotoksini su otkriveni u 100% ispitivanih uzoraka hrane. Pouzdana metoda u prevenciji sinteze mikotoksina je sistem kontrole sigurnosti hrane u svim fazama proizvodnje i distribucije koji uključuje dobru praksu skladištenja, dobru higijensku praksu i dobru proizvodnu praksu.

Ključne riječi: digitalni marketing, banke, društvene mreže, optimizacija pretraživača, mobilne aplikacije

ABSTRACT

By direct or indirect contamination, mycotoxins can enter the human and animal food chain. In addition to harmful effects on human and animal health, mycotoxins can have a significant negative economic impact. Due to their stability, mycotoxins remain for a long time in plant and animal products and are potentially a great danger to human and animal health in many countries around the world, especially in developing countries. Therefore, the

*Amir Ibrahimagić; Institut za zdravlje i sigurnost hrane, Zenica, Bosnia i Hercegovina, e-mail: ibrahimagic.amir@gmail.com

** Emilija Hrapović, mr.sc., University "VITEZ", Bosnia and Herzegovina, e-mail: emilija.hrapovic@unvi.edu.ba

main goal of this paper is to show the importance of mycotoxin control through the processes of storage, transport, and processing of samples for human and animal nutrition. According to the obtained results, 52% of samples intended for human consumption do not meet the reference values. Mycotoxins were detected in 100% of the tested food samples. A reliable method in the prevention of mycotoxin synthesis is the food safety control system at all stages of production and distribution, which includes good storage practice, good hygiene practice, and good production practice

Key words: mycotoxins, food safety, health, contamination, control

UVOD

Tokom prerade i skladištenja, plijesni mogu rasti i proizvoditi mikotoksine na plodovima prije i nakon berbe. Više od 100.000 poznatih vrsta plijesni, preko nekoliko stotina vrsta imaju sposobnost da proizvode mikotoksine. Odgovarajući sadržaj vlage, povoljne temperature, prisustvo kiseonika, fizička oštećenja usjeva i prisustvo spora gljivica, odgovorni su za pojavu plijesni i njihovih metabolita. Za sintezu cijelog niza mikotoksina odgovorne su mnoge vrste plijesni iz roda *Penicillium*. Ohratoksine proizvode *Penicillium verrucosum* i nekoliko sojeva plijesni *Aspergillus* koji kontaminiraju žitarice i proizvode toksine na polju i u skladištima. Vrste gljivica roda *Fusarium* važne za proizvodnju mikotoksina su *F. sporotrichioides*, *F. roseum*, *F. graminearum*, *F. verticillioides*, *F. culmorum*, *F. subglutinans*, *F. semitectum*, *F. proliferatum* itd. u umjerenim područjima i toplim podnebljima, a najčešće kontaminiraju žitarice i proizvode od žitarica (kukuruz, zob, pšenica, ječam, raž, pirinač, soja, brašno, formula za dojenčad, hrana za životinje, slad, pivo), kikiriki, orasi i neki sirevi (Ostry, 2008), ali se na ljude prenose i lancem ishrane (Radonić i sar. 2017)

Mikotoksini¹ kao česti zagađivači hrane, osim što izazivaju značajne ekonomske gubitke, uzrok su i raznih bolesti (Turner i sar., 2009). Bolesti koje uzrokuju nazivaju se mikotoksikozama koje predstavljaju veliki problem, kako za ljude tako i za životinje u mnogim zemljama širom svijeta, i ovisno o načinu unosa, mogu biti primarne i sekundarne. U ljudski organizam najčešće ulaze hranom, direktnom konzumacijom kontaminiranih žitarica ili indirektno konzumiranjem mlijeka, jaja i mesnih proizvoda (Naglić i sar., 2005). Prema vrsti plijesni najčešće se i vrši sistematizacija (aspergillus i penicilium toksini, trihoteceni), zatim prema hemijskoj strukturi (kumarini, laktoni, seskviterpeni) i prema načinu djelovanja (hepatotoksini, nefrotoksini, citotoksini, tremogeni, imunotoksični i estrogenski mikotoksini) i estrogeni (Mašek i Šerman, 2006).

Kontaminacija usjeva mikotoksinima javlja se u svim fazama i na polju i tokom žetve kao i transporta i skladištenja (Coffey i sar., 2009). Predstavljaju veliki problem, posebno u kišnim godinama, kada se značajno povećava postotak kontaminacije plijesni i posljedična proizvodnja mikotoksina (Mitak i sar., 2011). Relativno visok unos rastućih komponenti u

¹ grč. Mykes – gljiva, toksikon – otrov

ishrani može dovesti do gubitaka nutritivne vrijednosti i imati štetan učinak na zdravlje i produktivnost životinja (Biagi, 2009)

Krucijalna je prevencija nastanka mikotoksina s obzirom da ne postoji jedinstvena metoda za uklanjanje svih plijesni, a postojeće metode poskupljuju proizvodnju hrane (Peraica i sar. 2001). S obzirom da su glavni izvori mikotoksina u lancu ishrane ljudi i životinja, poljoprivredni proizvodi, odnosno žitarice i uljarice i proizvodi životinjskog porijekla, sprečavanje rasta plijesni i stvaranja mikotoksina može se postići primjenom niza dobrih poljoprivrednih praksi, dobrih proizvodnih praksi i HACCP principa (Duraković, & Duraković, 2000). Ove mjere se mogu podijeliti na: prije žetve (odabir sorti otpornih na plijesan, pravilno đubrenje, suzbijanje korova, pravilan plodored i navodnjavanje), žetvu (tokom žetve i transporta kako bi se minimizirala mehanička oštećenja zrna) i nakon žetve (pravilno sušenje i skladištenje) i preventivna primjena (neki insekticidi, fungicidi i konzervansi kao i redovno čišćenje skladišnih prostora), (Binder, 2007).

1. MATERIJAL I METODE

Istraživanje se sastoji od prikupljanja uzoraka žita i mlinskih proizvoda, te sirovog i pasterizovanog mlijeka na području Zeničko – dobojskog kantona i to: 11 uzoraka kukuruznog brašna za ljudsku upotrebu, šest uzoraka kukuruza kao stočna hrana i 16 uzoraka mlijeka tokom 2021.godine. Uzorci su se koristili za detekciju plijesni i detekciju mikotoksina (aflatoksin M1, aflatoksin B1, deoksinivalenol, zearalenol i ochratoxin A). Detekcija plijesni u uzorcima žita i mlinskih proizvoda analizirana je u skladu sa uputama ispred Službe za mikrobiologiju hrane, Instituta za zdravlje i sigurnost hrane Zenica, te u skladu sa standardom BAS EN ISO 21527-1:2008 – Horizontalna metoda za brojanje gljivica i plijesni. Detekcija mikotoksina analizirana je u skladu sa uputama Službe za hemijsku dijagnostiku, Instituta za zdravlje i sigurnost hrane, uz pomoć instrumenta ELISA (eng. enzyme-linked immunosorbent assay) i proizvođačke specifikacije kita. Za kontrolu cijelog procesa i rezultata koristio se referentni materijal sa poznatom koncentracijom pojedinih mikotoksina.

Rezultati su obrađeni i analizirani u skladu sa važećim Pravilnikom na nivou BiH i EU direktivom (Službeni glasnik BiH 68/2014; Službeni glasnik BiH br. 70/2016; Commission Recommendation 2006/576/EC).

2. REZULTATI

Od ukupno 17 uzoraka žita i mlinskih proizvoda, devet uzoraka namijenjenih za ljudsku prehranu nisu udovoljavala referentnim vrijednostima u skladu sa važećim Pravilnikom. Osam uzoraka je kontaminirano sa dva ili više mikotoksina. Dva uzorka su bila kontaminirana sa četiri mikotoksina (aflatoksini B1, DON, ZEA i Ochr A). Ochratoxin A je detektovan u svih 17 uzoraka u rasponu od min. 2,8 do max. 36,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Aflatoxin M1 nije detektovan u uzorcima mlijeka.

Mikrobiološkom analizom ustanovljeno je prisustvo plijesni u svim uzorcima žita i mlinskih proizvoda i to u rasponu od min. 1100 do 15000 cfu/g (Tabela 1 i 2), gdje su vrijednosti boldirane za uzorke koji su kontaminirani, tj. uzorci koji sadrže bilo kakvu koncentraciju mikotoksina.

Tabela 1. Žito i mlinski proizvodi namijenjeni za ljudsku prehranu

Namjena	Vrsta uzorka	Vrijednosti mikotoksina (µg/kg ili ppb)				
		Afla B1 Ref <5	DON Ref. <75	ZEA Ref. <75	Och A Ref. <5/<3	Plijesni (cfu/g)
Ljudska prehrana	Kukuruzno brašno 1786	<1	<40	<10	4,2	14000
	Kukuruzno brašno 1787	<1	<40	<10	8,8	14000
	Kukuruzno brašno 1791	20,3	<40	<10	7,8	9000
	Kukuruzno brašno 1793	<1	<40	<10	2,8	8400
	Kukuruzno brašno 1795	1,1	<40	<10	7,7	1100
	Kukuruzno brašno 1796	1,1	105	16,0	4,4	1400
	Kukuruzno brašno 1797	1,1	237	23,7	24,8	11000
	Kukuruzno brašno 1798	1,0	<40	<10	5,8	1700
	Kukuruzno brašno 1802	<1	131	<10	36,0	7500
	Kukuruzno brašno 1815	<1	<40	<10	5,4	8200
	Kukuruzno brašno 1816	15,5	<40	<10	8,5	9700

Izvor: autori na osnovu istraživanja

Tabela 2. Detekcija plijesni i mikotoksina u stočnoj hrani (kukuruz)

Namjena	Vrsta uzorka	Vrijednosti mikotoksina ($\mu\text{g}/\text{kg}$ ili ppb)				
		Afla B1 Ref <5	DON Ref. <12000	ZEA Ref. <75	Och A Ref. <250	Plijesni (cfu/g)
Stočna hrana	Kukuruz 1788	<1	<40	<10	5,3	15000
	Kukuruz 1789	<1	<40	<10	5,1	11000
	Kukuruz 1790	<1	649	<10	9,1	4800
	Kukuruz 1792	<1	<40	<10	6,3	3700
	Kukuruz 1794	<1	<40	<10	4,3	1500
	Kukuruz 1799	<1	<40	<10	4,0	3800

Izvor: autori na osnovu istraživanja

3. RASPRAVA

Ukupan broj gljivica je jedan od glavnih faktora u ocjeni higijenskog kvaliteta i vrlo je značajan za orijentaciju u većoj i maloj vjerojatnosti da hrana sadrži mikotoksine. Kao što je već i pomenuto, posljedica kontaminacije mikotoksinima je činjenica da su žitarice na polju i tokom skladištenja izložene različitim vrstama plijesni. Uslovi koji pogoduju proizvodnji mikotoksina su vlaga i temperatura, koncentracija kiseonika, fizička oštećenja, te prisutnost spora plijesni (Pleadin i sar., 2012). Gruba procjena je, prema podacima European Mycotoxin Awareness Network (EMAN, 2014), da tokom jedne godine, 25 % biljaka koje se koriste za hranu ljudi i životinja sadrži manje ili veće količine mikotoksina, iako se procjenjuje da je postotak i mnogo viši (Grec M.2014).

Višegodišnja istraživanja Domijana i sar. iz 2005 godine u Hrvatskoj pokazala su da mikotoksini učestalo kontaminiraju žitarice te da je sistemska kontrola mikotoksina u hrani i hrani za životinje neophodna kako bi se izbjegli negativni učinci na zdravlje kao i ekonomski gubici u poljoprivredi (Domijana i sar., 2005). Rezultati ovog istraživanja za prethodnu godinu potvrđuju navedeno, Och A je izolovan u svim uzorcima, 47% uzoraka je kontaminirano sa dva ili više mikotoksina.

U istraživanju koje je 2012. godine proveo HAH na uzorcima sastojaka stočne hrane koja količinski čini najveći udio svih smjesa stočne hrane, koncentracija aflatoksina nađena je u 23 % uzoraka kukuruza i 19 % uzoraka sačme soje, no niti u jednom uzorku nije bila veća od najveće dozvoljene koncentracije prema važećem pravilniku. Rezultati studije upućuju na minimalan rizik za ciljane životinje konzumacijom stočne hrane pripremljenih od analiziranih sirovina te na zanemariv rizik za potrošače proizvoda animalnog porijekla koji

potječu od životinja hranjenih navedenom hranom za životinje (HAH, 2012), što kolerira sa našim rezultatima, jer aflatoksin nije izolovan u ispitivanim uzorcima.

Istraživanje provedeno u Srbiji pokazalo je da od 67 uzoraka hrane za goveda, 100% uzoraka je kontaminirano sa ZON, 98,5% uzoraka ukupnim aflatoksinima i 92,5% uzoraka je kontaminirano DON - om. Pojava ZON i DON istovremeno ustanovljena je u 92,5% uzoraka. (Krnjaja .i sar., 2013). Naše istraživanje je pokazalo da je 16% uzoraka hrane za životinje kontaminirano DON – om, a 100% sa Ochr A.

Jakšić i sar. su 2012. proveli istraživanje prisutnosti DON - a u pšenici i kukuruзу u Srbiji. Od 75 uzoraka pšenice, 65,3 % bilo je kontaminirano sa DON-om u rasponu koncentracije mikotoksina od 64 do 1604 ng/g. Od 24 uzorka kukuruza, DON-a je u tri uzorka bio iznad dozvoljenih granica (Jakšić i sar., 2012), što kolerira i sa ovim istraživanjem.

Ohratoksini kontaminiraju žitarice i proizvode toksine u polju i u skladištima. U nekoliko je istraživanja nađeno da se OTA nalazi češće ili u većim koncentracijama u uzorcima namirnica (kukuruz, pšenica) prikupljenim u endemskom kraju, jer je tu zabilježena učestala pojava Balkanske endemske nefropatije, nego u kontrolnim uzorcima (Pavlinić i sar., 2010). OTA je nađen i u hrani, kao i u različitim namirnicama iz drugih krajeva Hrvatske, a koje su namijenjene za ljudsku prehranu (Šegvić Klarić i sar., 2009). Rezultati istraživanja za prethodnu godinu pokazali su povećane koncentracije OTA u svim uzorcima, kako uzorcima za ljudsku prehranu tako i u uzorcima stočne hrane. Ohratoksin A osim nefrotoksičnog, posjeduje teratogeno, imunotoksično i genotoksično dejstvo (Mantle i sar., 2010), kod različitih životinjskih vrsta.

ZEA se u Hrvatskoj može naći u sijenu, stočnoj hrani, kukuruзу, pšenici i ječmu (Šegvić Klarić i sar., 2009). U ovom istraživanju, koncentracija ZEA iznad dozvoljenih izolovana je u dva uzorka u hrani za ljudsku prehranu. Kontaminacija stočne hrane, kukuruza i drugih žitarica zavisi o klimatskim prilikama. U novijim je istraživanjima koncentracija ZEA u hrani i hrani za životinje daleko niža od dozvoljenih koncentracija, što ukazuje na poboljšanje agrotehničkih mjera u Hrvatskoj ili na promjenu mikroflore zbog globalnog zatopljenja (Domijan i sar., 2005). Prema podacima navedene studije za prethodnu godinu, koncentracija ZEA u stočnoj hrani detektovana je u dozvoljenim koncentracijama.

ZAKLJUČCI

Žitarice na polju i tokom skladištenja prilikom izlaganja različitim vrstama plijesni mogu biti kontaminirane mikotoksinima. Mikotoksini predstavljaju štetne metabolite nekih vrsta plijesni, a prema podacima utječu na preko 25% ukupnih svjetskih poljoprivrednih kultura. Prevencija kontaminacije hrane mikotoksinima treba da počne još na polju prije žetve (Pre-harvest strategies) i tokom skladištenja (Post-harvest strategies).

Kontrola i zaštita hrane i hrane za životinje od mikotoksina mora se provoditi u cijelom lancu ishrane "od farme do stola". Faktore spoljašnje sredine koji utječu na kolonizaciju plijesni i sintezu mikotoksina poput skladišnih uslova mogu se lako kontrolisati, dok ostali faktori spoljašnje sredine kao što su klimatske promjene ili unutrašnji faktori koji

se odnose na specifičnost i varijacije pojedinih vrsta plijesni i nestabilnost toksigenih svojstava plijesni, je veoma teško kontrolisati.

U skladištu, preventivne mjere u cilju smanjenja kolonizacije plijesni i sinteze mikotoksina zasnivaju se na korištenju fizičkih i hemijskih metoda. Održavanje niske temperature u skladištu i kontrola vlažnosti osnovni su principi fizičkih metoda (EMAN, 2004). U uslovima kada je primjena fizičkih metoda onemogućena, primjenjuju se hemijske metode.

Značaj laboratorijske kontrole mikotoksina kroz procese skladištenja, transporta i obrade uzoraka hrane za ljudsku i animalnu prehranu primjenom specifičnih i selektivnih analitičkih metoda predstavljen je provedenim istraživanjem a sve s ciljem predstavljanja značaja kontinuiranog monitoringa zdravstvene sigurnosti i zaštite zdravlja ljudi i životinja.

LITERATURA

1. Biagi, G. (2009). Dietary supplements for the reduction of mycotoxin intestinal absorption in pigs. *Biotechnol Anim Husband*; 25(5-6): 539-46.
2. Binder, E. M. (2007). Managing the risk of mycotoxins in modern feed production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 133, 149-166.
3. Coffey, R., E. Lummins, & S. Ward. (2009). Exposure assessment of mycotoxins in dairy milk. *Food control* 20, 239-249.
4. Commission Recommendation (2006). Presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding. *Official Journal of the European Union*, 2006/576/EC.
5. Domijan A-M., M. Peraica., Ž. Jurjević., D. Ivić., & B. Cvjetković (2005). Fumonisin B1, fumonisin B2, zearalenone and ochratoxin A contamination of maize in Croatia. *Food Add. Contam.* 22, 677-680.
6. Duraković S., & L. Duraković. (2003). *Mikologija u biotehnologiji*. Kugler, Zagreb.
7. EMAN, 2004. Fact sheets on HACCP – Prevention and control. Available at: <[http:// 193.132.193.215/eman2/fsheet3_1.asp](http://193.132.193.215/eman2/fsheet3_1.asp).
8. European Mycotoxin Awareness Network. (2014). <http://mycoglobe.ispa.cnr.it/Brussel/EMAN.pdf>
9. Grec, M. (2014). Mikotoksini u žitaricama žetve 2013. u Hrvatskoj. Retrieved 22 March 2022, from <https://repositorij.ptfos.hr/islandora/object/ptfos:125>
10. HAH, Hrvatska agencija za hranu (2012). Znanstveno mišljenje o mikotoksinima u hrani za životinje.
11. Jakšić S., Abramović B., Jajić I., Živkov Baloš M., Mihaljev, Ž., Despotović, V., & Šojić D. (2012). Cooccurrence of fumonisins and deoxynivalenol in wheat and maize harvested in Serbia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 89:615-619.
12. Krnjaja V.i sar. (2013). Kontaminacija hrane za goveda plesnima i mikotoksinima, *Vet.glasnik* 67 (1-2) 129 -138.

13. Mantle, P., Faucet-Marquis V., Manderville R., Sciqualli B., & Pfohl-Leskowicz A., (2010). Structures of covalent adducts between DNA and ochratoxin A: a new factor in debate about genotoxicity and human risk assessment. *Chemical Research in Toxicology*, 23, 89–98.
14. Mašek, T., & V. Šerman (2006). Utjecaj mikotoksina na zdravlje i proizvodnost preživača. *Krmiva* 48, 19-31.
15. Mitak, M., J. Pleadin, N.Perši., A.Vulić., & M, Zadarvec. (2011). Mikotoksini u krmnim sirovinama i smjesama tijekom 2009. i 2010. godine. *Vet. stn.* 42, 139-145.
16. Naglič, T. D., Hajsig, J., Madić, Lj, & Pinter (2005). *Veterinarska mikrobiologija – Specijalna bakteriologija i mikologija: Mikotoksikoze*. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb: Hrvatsko mikrobiološko društvo.
17. Ostry, V. (2008). *Alternaria mycotoxins: an overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs*. *World Mycotoxin Journal* 1:175-188.
18. Pavlinić, I., Puntarić, D., Bošnjir, J., Lasić, D., Barušić, L., Jergović, M., Miškulin, M., Puntarić, I., & Vučić, K. (2010). Istraživanje ohratoksina A u ječmu – doprinos mikotoksinskoj hipotezi nastanka endemske nefropatije. *Medica Jadertina* 40:59-65
19. Peraica, M., & A. M. Domijan. (2001). Contamination of food with mycotoxins and human health. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 52, 23-35.
20. Pleadin, J., Solaković, M., Perši, N., Zadravac, M., Jaki, V., & Vulić A. (2012). Contamination of maize with deoxynivalenol and zearalenone in Croatia. *Food Control* 28, 94-98.
21. Pravilnik o izmjeni i dopuni Pravilnika o nepoželjnim tvarima u hrani za životinje. Službeni glasnik BiH br. 70/2016.
22. Pravilnik o maksimalno dozvoljenim količinama za određene kontaminante u hrani Službeni glasnik BiH br. 68/2014.
23. Radonić, JR., Kocić Tanackov, SD., Mihajlović, IJ., Grujić, ZS., Vojinović Miloradov MB., & Škrinjar, M.(2017). Occurrence of aflatoxin M1 in human milk samples in Vojvodina, Serbia: Estimation of average daily intake by babies. *J Environ Sci Health Part B*; 52:159–63.
24. Šegvić, Klarić M., Cvetnić, Z., Pepeljnjak, S., & Kosalec I. (2009) Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin A, fumonisins and zearalenon in cereals and feed, determined by competitive direct enzyme-linked immunosorbent assay and thin-layer chromatography. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* 60:427-434.
25. Turner, H.W., Subrahmanyam, S., & Piletsky, SA. (2009). Analytical methods for determination of mycotoxins. *Analytica Chimica Acta* 632:168-180.