

## Toksini fusarium plijesni i drugi toksini (Fusarium toxins and other toxins)

Marijan Katalenić

Hrvatski zavod za javno zdravstvo

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

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 kod 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 TDI 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, radi utvrđivanja stvarne procjene rizika, Hrvatska mora organizirano pristupiti utvrđivanju količina mikotoksina u hrani i hrani za životinje optimalnim iskorištenjem analitičkih kapaciteta.

### Uvod

Plijesni su sveprisutne u okolišu, primarno 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. (1)

Prema podacima Programa za kvalitetu života i upravljanje živim resursima koji se nalaze na stranicama Mycotoxin Awareness Network (EMAN), osnovanog od Europske komisije, gruba procjena je da 25% biljaka godišnje 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. (2) Drugi način je uporaba zaštitnih sredstava pesticida s ciljanom učinkom, kao što je ove godine prvi puta korišten biopesticid Alfa-Guard razvijen u Agricultural Research Service (USA). Koristi se za sada samo za kikiriki, a smanjuje 70-90% nastanak aflatoksina (*Aspergillus flavus* i *Aspergillus parasiticus*) nakon prvog apliciranja te čak do 98 % nakon drugog. Kako je ista plijesan prisutna i na kukuruzu, istraživanja se nastavljaju.

Mikotoksini su stabilni spojevi, tako da se u gotovom proizvodu koji je prošao tehnološku obradu često nalaze mikotoksini. Oni se rijetko mogu uništiti tijekom prerade, a po masi gotovog proizvoda se češće reduciraju i bolje rasporede.

Uzimanje uzoraka predstavlja najslabiju kariku u lancu 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 toksične količine mikotoksina, tako da samo reprezentativan uzorak može otkriti mikotoksine i smanjiti rizik pri određivanju u seriji ili lotu. (3)

Tijekom hranjenja, plijesni ispuštaju enzime u hranjivu masu radi razgradnje složenih sastojaka 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 za 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 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 altertoksini), patulin i dr., a potpuni popis prikazan je u Prilogu 1 (10).

Ipak plijesni ne produciraju uvijek 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 pod istim uvjetima.

Mikotoksikoze su bolesti koje se vežu uz unošenje mikotoksina. Domaćim životinjama uzrokuju alergijske reakcije, smanjenje reprodukciju, mršavljenje, gubitak apetita, povraćanje, smanjenje imuniteta, smanjenje iskorištenja/probavljivosti hrane i smrt. Zabilježeni su masovni pomori životinja tijekom 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 . (9)

„X bolest purica“, 1960 godine uzrokovala je pomor više od 100.000 mladih purica i 20.000 druge peradi. Veliki pomor peradi povezuje se s hranom na bazi kikirikija uvezenoj iz Brazila u kojoj su nađeni aflatoksini pa se taj datum smatra prekretnicom u snažnijem pristupu istraživanjima mikotoksina u modernoj povijesti(1). Općenito aflatoksin B1 smatra se uzrokom kancerogenih promjena kod životinjama, tako da mlade životinja koje konzumiraju 50 – 100  $\mu$ g aflatoksina B1 po kg hrane obolijevaju od karcinom jetara. Također životinjska prahrana koja nije dobro proteinski izbalansirana, rezultira jačim učinkom aflatoksina na zdravlje životinja.

Trovanja mikotoksinima kroničari spominju već 943 g kao „Vatra sv. Ante“ uzrokovanu ergot alkaloidima nastalim razvojem plijesni *Claviceps purpurea* na žitarici raži (1). Citreoviridin je uzrok akutne srčane maligne bolesti, a proizvode ga plijesni *Penicillium* na riži (toksin žute riže). Alimentarna toksična aleukija (ATA), povezana trihotekenima koje proizvode plijesni *Fusarium* na pšenici, prosu i ječmu. ATA nije zabilježena godinama, ali je bila učestala između 1930 – 40 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.(10)

Aflatoksini se povezuju s primarnim karcinomom jetara, tako da je preko 100 ljudi u Indiji umrlo od pljesnivog kukuruza koji je sadržavao aflatoksine. Aflatoksini su bili nađeni u tkivima djece oboljele od Reyesovog sindroma na Istoku i u kancerogenim lezijama debelog crijeva. U zavisnosti od godine i vremenskih prilika tijekom godine raste i količina aflatoksina u biljkama , tako da je u kukuruzu zabilježeno 1977, 1980, 1983 i 1988 godine (SAD), 20  $\mu$ g/kg i više aflatoksina B1 u kukuruzu. Poznato je da se konzumiranjem takve hrane isti pojavljuje kao M1 u mlijeku. Inače za aflatoksinški metabolit M1 u mlijeku tolerancija je 0  $\mu$ 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. (9,10)

Slika 1. Kukuruz inficiran s plijesnim *Fusarium* spp.

Ipak u SAD se kukuruz s 100  $\mu$ g aflatoksina može koristiti za prehranu životinja koje ne daju mlijeko, a s 300  $\mu$ g u hrani za stoku za klanje i 150  $\mu$ g za hranu svinja za klanje. Te količine ne štete životinjama i ne prelaze u konačni proizvod, hranu za ljude, a krave koje daju mlijeko, hranjene s hranom koja sadrži 20  $\mu$ g ili manje aflatoksina imaju manje od 0.1  $\mu$ g aflatoksina u mlijeku. Općenito udio M1 metabolita je 1 % od količine aflatoksina koja se nalazi u hrani životinja. Ispitivanja pokazuju da 1  $\mu$ 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) .(10).



Tablica 1. bolesti ljudi koje se povezuju s unošenjem toksičnih količina mikotoksina

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

Upravo zbog toga je važno da svaki individualni proizvođač hrane za ljude i hrane za stoku bude upoznat s rizikom koji dovodi do razvoja plijesni kao i mogućnosti, analitičkim metodama kontrole proizvoda.

Slika 2 . Optički biosenzor za mjerenje plave fluorescencije aflatoksina ili fumonizina u kukuruзу ( na slici je Chris Maragos , slikao Keith Weller )



Danas se koristi nekoliko vrsta analitičkih metoda za dokazivanje i određivanje mikotoksina . Neke od njih su komercijalni kitovi s priređenim reagencijama, 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 intenzitet svijetlo plave fluorescencije
- Kromatografske tehnike sa složenijim analitičkim instrumentima (GC-ECD, GC-MS, HPLC-DAD/FLD, LC-ACPI-MS) . (8,9) .

#### Toksini fusarium plijesni

Plijesni fusarium vrste rastu na određenim usjevima prije žetve biljke kao i nakon spremanja u silose. Količina nađenih toksina ovisi o zemljopisnoj lokaciji, agronomskoj praksi, načinu spremanja u silose, podložnosti i osjetljivosti biljke na te plijesni. Količina toksina u biljkama tijekom uzgoja ovisi o temperaturi, vlazi i kišama prije i za vrijeme kupljenja s polja (3,6). Visoka koncentracija toksina povezuje se s vrućim i suhim vremenom, uz povremene periode visoke vlage. Osim toga, razvoj plijesni potiču i insekti koji oštećuju biljke (plod) (4,5). Vлага (18-23 %) tijekom skladištenja kukuruza je optimalna za razvoj plijesni fusarium vrste (5).

Količina toksina se mijenja tijekom procesa obrade sirovog kukuruza i mljevenja što je bilo i objavljeno u izvještaju CFSAN's „Background Paper in Support of Fumonisin Levels in Corn and Corn Products Intended for Human Consumption“.

Zabrinutost zbog raširenosti, uništavanja velikih količina hrane, kao i toksičnih produkata potaknulo je EU na znanstveno istraživanje objavljeno u izvještaju od 606 stranica, travnja 2003 godine pod naslovom: „Collection of occurrence data of Fusarium toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU Member States „ .

U tablici 2 iz navedenog izvještaja, prikazane su grupe najčešće kontaminiranih biljaka s Fusarium toksinima.

Tablica 2 . Vrste biljaka koje su kontaminirane s toksinima Fusarium vrste (7)

| Fusarium toksini        | % pozitivnih uzoraka po pojedinim vrstama biljaka  |
|-------------------------|--|
| Tip B trikotekena       |  |
| Deoksinivalenol         | kukuruz (89 %) , pšenica (61 %) *  |
| Nivalenol               | kukuruz (35 %), zob (21%)*, pšenica (14%) *  |
| 3-acetildeoksinivalenol | kukuruz ( 27%), pšenica (8%) *   |
| Tip A trikotekena       |  |
| T-2 toksin              | kukuruz(28%), pšenica (21%) , zob (21%)  |
| HT-2 toksin             | raž (41%), kukuruz (24%), raž (17%) **   |
| Zearalenon              | kukuruz ( 79 %), mljeveni kukuruz ( 51%), proizvodi na bazi kukuruza (53%), pšenica (30%), mljevena pšenica (24%), pšenični proizvodi (11%), dječja hrana (23 %) |
| Fumonizini              |  |
| Fumonizin B1            | kukuruz ( 66%) , kukuruzno brašno (79 %), kukuruzni proizvodi (31 %), kukuruzne pahuljice (46%), pšenica (79 %)  |
| Fumonizin B2            | kukuruz (51 %)   |

\* i \*\* odnosi se i na mljevene proizvode

Istraživanje je pokazalo da je i u drugim dijelovima svijeta kukuruz na prvom mjestu među kultiviranim biljkama koje plijesni fusarium vrste smatraju pogodnim staništem i na kojem se najčešće i nalaze. Osim toga dobro stanište je i pšenica, te raž i zob. Jasno je da zabrinutost posebno izražena zbog načina prehrane ljudi koji kukuruz i pšenicu koriste u svakodnevnoj prehrani. Slijedeći korak bilo je izražavanje nađenih količina na dnevni unos izraženo u postotku na privremeni ili utvrđeni TDI.

Tablica 3. Raspon dnevnog unosa u % za mikotoksine plijesni fusarium vrste računato na privremene \*\* i utvrđene tolerantne dnevne količine (TDI) .(7)

| mikotoksin         | TDI µg/kg tjelesne težine /dnevno | stanovništvo | posebno grupa odrasli | posebno grupa djeca |
|--------------------|-----------------------------------|--------------|-----------------------|---------------------|
| deoksinivalenol    | 1                                 | 0.8 – 33.8 % | 14.4 - 46.1 %         | 11.3-95.9 %         |
| nivalenol<br>**    | 0.7                               | 4.2 -11.1 %  | 0.8 -8.2 %            | 3.7 -22.6 %         |
| T-2 +HT-2 toksin** | 0.06                              | 18.3 – 250 % | 61.7 – 171.7 %        | 26.7 – 563.3 %      |
| zearalenon         | 0.2                               | 13.4 %       | 5.3 – 14.5 %          | 3 – 27.5 %          |
| fumonizin B1 + B2  | 2                                 | 0.8 – 13.2 % | 0.1 -14.1             | 22.3 %              |

Iz prikazanih rezultata vidljivo je da su mikotoksini Fusarium vrsta različito raspoređeni u prehrambenom lancu u zemljama EU. Najčešći izvor su žitarice posebno pšenica i kukuruz. Gledajući unos prema privremenom ili utvrđenom TDI , rizična skupina su djeca za T-2 i HT-2, a manje druge starosne grupe. Različiti klimatski uvjeti, proizvodnja i konzumacija hrane uvjetuju i različitost unešenih količina. Pri tome se može napomenuti da je za potpunu vjerodostojnost rezultata prikazanih u tablici 3. potrebno raditi

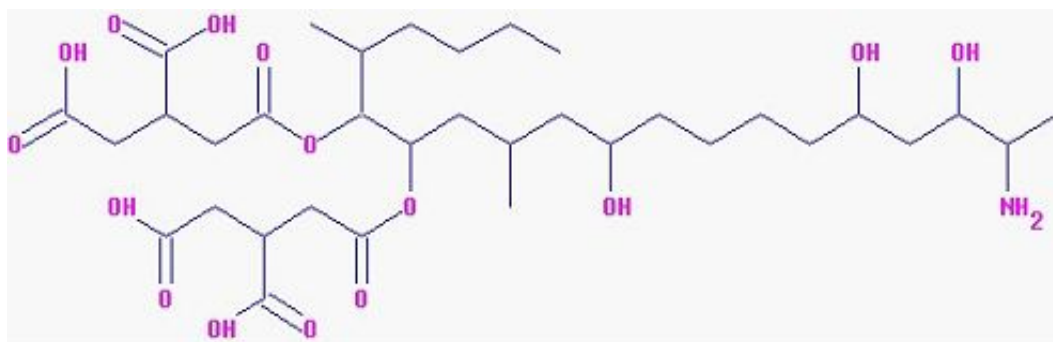
na ujednačavanju načina uzorkovanja, analitičkih metoda, kvalitete rada i metodologije računanja unosa. Ovi rezultati su ipak dokaz da čovjek putem hrane sigurno dnevno unosi mikotoksine u količinama često ispod TDI-a svakog pojedinačnog mikotoksina. Zbog raznovrsnosti prehrane, unose se i drugi mikotoksini, te se postavlja pitanje sinergističkog djelovanja, a time i štetnog učinka na čovjeka. Iako se fumonizini B1 i manje toksični B2 ne unose u pretjeranim količinama u organizam, njihovo štetno djelovanje povezuje se s nastajanjem raka jednjaka, što je i dokazano kod ljudi iz južne Afrike i Kine gdje je fumonizininima kontaminiran kukuruz uobičajen u prehrani. Postoji također teorija da se oštećenje ploda u najranijoj fazi razvoja, može povezati s fumonizinima.

Toksični učinci toksina fusarium plijesni na životinje

Fumonizini (B1, B2 i B3)

Fumonozin B1 je toksičniji od ostala dva. Povezuje se s leukoencefalomalacijom kod konja (ELEM). Istraživanja su pokazala da konzumacijom oko 8 mg/kg hrane fumonizina postoji rizik od nastajanja ELEM-a kod konja. Konji su osjetljiviji na fumonizine, a nakon pojave simptoma bolesti vrlo rijetko se oporavljaju. Kod peradi i svinja, fumonizini djeluju na limfocite i tako smanjuju imunitet, a kod svinja povezuju se i s nastankom edema pluća. Kod preživača, koji su otporniji na fumonizine nego ostale vrste životinja tek hrana s 150 mg/kg hrane fumonizina izaziva lezije na jetri (6,10).

Slika 3 - Strukturna formula fumonizina B1



Deoksinivalenol (vomitoksin )

Kao što mu i samo ime kaže, uzrokuje povraćanje, posebno kod svinja koje su osjetljivije na taj toksin od drugih životinja. Samo 5 mg/kg hrane vomitoksina smanjuje iskorištenje hrane za 30 – 50 % na način da svinje odbijaju konzumirati takvu hranu. Razlog kako prepoznaju prisutnost vomitoksina nije poznato, ali se pretpostavlja da miris i okus potiču svinje na prepoznavanje vomitoksina i odbijanje takve hrane. Manje količine, svinje ne prepoznaju, a postoje istraživanja da količine od 3.5 mg/kg hrane vomitoksina uzrokuje smanjenje težine u trudnoći svinja kao i na kasnije dojenja.

Kod peradi koja unosi 5 – 18 mg/kg hrane vomitoksina ne postoje primijećene pojave niti u zdravlju niti pri nošenu jaja. Ista situacija je i kod preživača kod kojih ne postoje zdravstveni problemi pri unošenju 10 – 15 mg/kg hrane vomitoksina .

Zearalenon

To je estrogeni mikotoksin i ima učinak na reproduktivne funkcije pogotovo kod svinja . Ženke svinja koje još nisu reproduktivno spremne, unošenjem 5 mg zearalenona po kg hrane, imaju vidljivo crvenilo i druge promjene na reproduktivnim organima, kao na mliječnim žlijezdama. Unutrašnji reproduktivni organi također poprimaju izgled zrele reproduktivno spremne ženke. Prestankom unosa, nastale promjene nestaju za 2–3 tjedna. Kod zrelih ženki izaziva pseudotrudnoću i poremećaj standardnog ciklusa i to u količinama od 4 – 5 mg/kg hrane koja sadrži zearalenon .

Kod mladih mužjaka količina od 10 mg po kg hrane, izaziva smanjenje libida, atrofiju testisa i povećanje mliječnih žlijezda, dok kod starijih mužjaka taj učinak nije primijećen niti kod puno većih količina zearalenona.

Perad nije posebno osjetljiva, a purice koje konzumiraju 300 mg/kg hrane imaju povećan analni otvor što se primjećuje nakon 4 dana.

Ako ovce unose oko 12 mg/kg hrane kroz 10 dana, primjećuju se promjene u ponašanju, smanjuje se ovulacijski period i smanjuje se plodnost. Međutim toksični učinak zearalenona može doći do izražaja, ako se tijekom vremena unose male količine koje se kumuliraju u organizmu. Djelovanje se istih se zamjećuje

nakon nakupljanja respektabilnih količina ili unošenjem većih koncentracija toksina kroz kraće vrijeme. Unošenjem 1.5 mg toksina po kg hrane kroz 10 dana primjećuju se reproduktivni problemi, a isti učinak postiže se unosom 0.5 mg/kg kroz 20 dana. Ovnovi nemaju nikakvih reproduktivnih problema unošenjem 2.5 mg/kg hrane kroz 30 dana.

Za krave se smatra da su najmanje osjetljive na zearalenon, a neke studije pokazuju da unošenjem 100 mg/kg hrane nakon 42 dana izaziva pojavu sluzi na genitalijama.

Tablica 4 . Količine mikotoksina koje utječu na zdravlje životinja nakon određenog vremenskog perioda \*

| <b>Zearalenon</b>                        |                            |                             |  |
|--|----------------------------|-----------------------------|--|
| <b>Svinje</b>                            | <b>Koncentracija mg/kg</b> | <b>Kroz vrijeme</b>         | <b>Učinak</b>  |
| mlade svinje                             | 1-5                        | 3-7 dana                    | hiperestrogenizam, promjene na reproduktivnim organima |
| seksualno sposobne ženke                 | 3-10                       | sredina ciklusa (dan 11-14) | lažna trudnoća   |
| trudne krmače                            | 15-30                      | rana trudnoća               | smrt embrija, mala masa                                |
| mladi nerasti                            | 10-50                      | neodređeno                  | smanjen libido, smanjeni testisi                       |
| stariji nerasti                          | 200                        | neodređeno                  | bez učinka   |
| <b>Stoka</b>                             |                            |                             |  |
| stoka                                    | 12                         | junice kada se tjeraju      | smanjuje mogućnost začeća                              |
| krave muzare                             | 50                         | krave kada se tjeraju       | smanjuje mogućnost začeća                              |
| <b>Perad</b>                             |                            |                             |  |
| pilići i purice                          | 200                        | neodređeno                  | bez učinka   |
| <b>Deoksinivalenol (vomitoksin, DON)</b> |                            |                             |  |
| <b>Svinje</b>                            |                            |                             |  |
| u tijeku tova                            | 1-3                        | 1-5 dana                    | smanjenje unosa hrane                                  |
| u tijeku tova                            | 5-10                       | 1-5 dana                    | 50% smanjeni unos hrane, povraćanje                    |
| u tijeku tova                            | 10-40                      | 1-5 dana                    | potpuno odbijanje hrane, povraćanje                    |
| krmače                                   | 3-5                        | vrijeme trudnoće, dojenja   | smanjena masa ploda ili bez učinka                     |
| <b>Stoka</b>                             |                            |                             |  |
| u tijeku tova                            | 10                         | neodređeno                  | bez učinka   |
| krave koje daju mlijeko                  | 6                          | 6 tjedana                   | bez učinak ili malo slabije hranjenje                  |
| krave koje daju mlijeko                  | 12                         | 10 tjedana                  | nema učinka na proizvodnju mlijeka                     |
| <b>Perad</b>                             |                            |                             |  |
| pilići i purice                          | 50                         | neodređeno                  | bez učinka   |

| <b>Fumonisin (FB1 i /ili FB2)</b> |                            |                     |   |
|-----------------------------------|----------------------------|---------------------|---|
| <b>Konji</b>                      | <b>Koncentracija mg/kg</b> | <b>Kroz vrijeme</b> | <b>Učinak</b>   |
| svih vrsta i starosti             | >10                        | 30 dna              | oštećenje jetara, leukoencefalomalacija, smrt                                       |
| <b>Svinje</b>                     |                            |                     |   |
| svih vrsta i starosti             | >25                        | 30 dana             | smanjena masa , slabo oštećenje jetara  |
| svih vrsta i starosti             | >50                        | 10 dana             | smanjena masa , srednje oštećenje jetara  |
| svih vrsta i starosti             | >100                       | 5 dana              | ozbiljni plućni edemi , smrt  |
| <b>Stoka i ovce</b>               |                            |                     |   |
| svih vrsta i starosti             | >100                       | 30 dana             | malo smanjene masa, slabo oštećenje jetara  |
| svih vrsta i starosti             | >200                       | 14 dana             | smanjenje masa, srednje oštećenje jetara  |
| <b>Purice</b>                     |                            |                     |   |
| svih vrsta i starosti             | >100                       | 7-21 dan            | smanjen unos hrane, oštećenje jetara, proljev, rahitis, rane na koljениčnim kostima |
| <b>Pilići</b>                     |                            |                     |   |
| svih vrsta i starosti             | >200                       | 7-21 dan            | smanjen unos hrane, oštećenje jetara, proljev, rahitis, rane na koljениčnim kostima |

| <b>Aflatoxini</b>   |                         |   |
|---|-------------------------|---|
| <b>Svinje</b>   | <b>količina u µg/kg</b> | <b>učinak</b>   |
| svih vrsta i starosti   | 200                     | umanjen rast , smanjen unos hrane                     |
| svih vrsta i starosti   | 400                     | oštećenje jetara i imuno sustava                      |
| <b>Stoka u uzgoju</b>   |                         |   |
| svih vrsta i starosti   | 400                     | ostatak u tijelu, mesu                                |
| svih vrsta i starosti   | 700                     | slabo oštećenje jetara, smanjen rast i unos hrane     |
| svih vrsta i starosti   | 1000                    | srednje oštećenje jetara, gubitak na masi             |
| svih vrsta i starosti   | 2000                    | ozbiljno oštećenje jetara, smrt                       |
| <b>Krave</b>  |                         |   |
| koje daju mlijeko   | 20                      | utvrđeni afatoksini u mlijeku                         |
| koje daju mlijeko   | 1500                    | smanjenje produkcije mlijeka                          |
| <b>Perad</b>  |                         |   |
| brojleri  | 210                     | bez učinka  |
| purice  | 250                     | smanjenje mase  |
| brojleri  | 420                     | gubitak mase, srednje oštećenje jetara nakon 3 tjedna |
| <b>Konji</b>  |                         |   |
| svih vrsta i starosti   | 400                     | oštećenje jetara, imunog sustava                      |
| izvor : Munkvold, G., Osweiler, G., Hartwig, N. 1997 Iowa State University Ext. PM-1698 * |                         |   |

dostupno : <http://www.oardc.ohiostate.edu/ohiofieldcropdisease/Mycotoxins/mycopagedefault.htm>

#### Zaključak

Mikotoksini su među inim toksičnim tvarima koje proizvode mikroorganizmi. Ljudi i životinje unose ih putem hrane, udisanjem ili preko kože. Procjenjuje se da 25 % biljaka godišnje koje se koriste za hranu ljudi i životinja sadrži manje ili veće količine mikotoksina .

Nekoliko mikotoksina povezuje se s porastom karcinoma kod ljudi a posebno su istaknuti aflatoksini,

zearalenone, patulin, ohratoksin i fumonozini. Osim ljudi i životinje imaju ozbiljnih zdravstvenih poteškoća ako konzumiraju hranu koja sadrži mikotoksine. I pored istraživanja, naročito aflatoksina, još se uvijek ne može sa sigurnošću odrediti stupanj učinka pri razvoju ozbiljnih bolesti kod ljudi i životinja. Za utvrđivanje uzročno posljedične veze između unosa mikotoksina i bolesti potrebno je prije svega bolje epidemiološko praćenje, monitoring mikotoksina s razrađenim sustavom uzorkovanja i računanja unosa. Kod životinja problem je puno složeniji, a hrana za stoku se nedovoljno analizira na sadržaj mikotoksina.

Hrvatska ima opremu i stručnjake koji se bave mikotoksinima, ali osim sporadičnih istraživanja i stručnih radova ne postoji sustavni pristup.

U prijedlogu monitoringa koji sprema Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi, s izdvojenim sredstvima države ciljano se traže štetne tvari u hrani, među kojima su i mikotoksini.

Osim najtoksičnijih aflatoksina potrebno je obratiti pažnju i na druge mikotoksine. Toksini koje proizvode fusarium plijesni ne svrstavaju se u posebno toksične tvari. Zbog štete koju proizvode same plijesni na žitaricama i prisutnosti u sirovinama za hranu, EU je poduzela vrlo detaljno istraživanje unosa fumonizina putem hrane. Rezultati ispitivanja prikazali su dnevni unos toksina koje proizvode plijesni fusarium vrste, a koji je za neke populacijske grupe i preko utvrđenog TDI. U ispitivanjima hrane koja se uvozi u Hrvatsku nađen je fumonizin B1 i B2, ali nema takvih podataka za hranu proizvedenu u Hrvatskoj.

Sinergistično djelovanje fumonizina i drugih mikotoksina ostavlja otvoreno pitanje posljedica na ljudsko zdravlje, ali i zdravlje životinja koje se hrane hranom u kojoj se nalaze mikotoksini. Zbog toga je prevencija na polju i tijekom skladištenja žitarica jedan od prvih koraka smanjivanju količina mikotoksina u hrani, a sustavna kontrola kroz osmišljeni monitoring drugi zaštitni bedem.

#### Prilog 1 . Sekundarni metaboliti različitih vrsta plijesni (10)

| <b>Mikotoksini</b>        | <b>Plijesni</b>   |
|---------------------------|---|
| Acetoxyscirpenediol       | <i>Fusarium moniliforme, F. equiseti, F. oxysporum, F. culmorum, F. avenaceum, F. roseum, and F. nivale</i> |
| Acetyldeoxynivalenol      | <i>Fusarium moniliforme, F. equiseti, F. oxysporum, F. culmorum, F. avenaceum, F. roseum, and F. nivale</i> |
| Acetylneosolaniol         | <i>Fusarium moniliforme, F. equiseti, F. oxysporum, F. culmorum, F. avenaceum, F. roseum, and F. nivale</i> |
| Acetyl T-2 toxin          | <i>Fusarium moniliforme, F. equiseti, F. oxysporum, F. culmorum, F. avenaceum, F. roseum, and F. nivale</i> |
| Aflatoxin                 | <i>Aspergillus flavus, A. parasiticus</i>   |
| Aflatrem                  | <i>Aspergillus flavus</i>   |
| Altenuic acid             | <i>Alternaria alternata</i>   |
| Alternariol               | <i>Alternaria alternata</i>   |
| Austdiol                  | <i>Aspergillus ustus</i>  |
| Austamide                 | <i>Aspergillus ustus</i>  |
| Austocystin               | <i>Aspergillus ustus</i>  |
| Avenacein <sup>+1</sup>   | <i>Fusarium moniliforme, F. equiseti, F. oxysporum, F. culmorum, F. avenaceum, F. roseum, and F. nivale</i> |
| Beauvericin <sup>+2</sup> | <i>Fusarium moniliforme, F. equiseti, F. oxysporum, F. culmorum, F. avenaceum, F. roseum, and F. nivale</i> |
| Bentenolide               | <i>Monographella nivalis</i>  |
| Brevianamide              | <i>Aspergillus ustus</i>  |
| Butenolide                | <i>Fusarium moniliforme, F. equiseti, F. oxysporum, F. culmorum, F. avenaceum, F. roseum, and F. nivale</i> |
| Calonectrin               | <i>Fusarium moniliforme, F. equiseti, F. oxysporum, F. culmorum, F. avenaceum, F. roseum, and F. nivale</i> |
| Chaetoglobosin            | <i>Chaetomium globosum</i>  |
| Citrinin                  | <i>Aspergillus carneus, A. terreus, Penicillium citrinum, P. hirsutum, P. verrucosum</i>                    |
| Citreoviridin             | <i>Aspergillus terreus, 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>   |
| Deacetylcalonecristin                                      | <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> |
| 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> , and <i>F. nivale</i>  |
| Diacetoxyscirpenol   | <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i>  |
| Destruxin B  | <i>Aspergillus ochraceus</i>  |
| Enniatins  | <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , <i>F. solani</i> , and <i>F. nivale</i>  |
| Fructigenin <sup>+1</sup>                                  | <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , and <i>F. roseum</i>   |
| Fumagilin  | <i>Aspergillus fumigatus</i>  |
| Fumonisin B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , B <sub>3</sub> | <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 <sup>+1</sup>                                    | <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , and <i>F. nivale</i>   |
| Lycomarasmin <sup>+1</sup>                                 | <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> , and <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> , and <i>F. nivale</i>                    |
| Neosolaniol          | <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. avenaceum</i> , and <i>F. roseum</i>   |
| 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> , and <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> , and <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> , and <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> , and <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> , and <i>F. nivale</i>      |
| Slaframine            | <i>Rhizoctonia leguminicola</i>   |
| 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> , and <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> , and <i>F. nivale</i>                            |
| Triacetoxyscirpentiol | <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. avenaceum</i> , <i>F. roseum</i> , and <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> , and <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> , and <i>F. nivale</i> |

#### Literatura:

1. Peraica M., Radić B., Lucić A. i Pavlović M.: Toxic effects of mycotoksins in humans. Bulletin of the World Health Organization, 77 (9) : 754 -766, 1999.
2. HACCP Manual for Mycotoxin Control. FAO/IAEA Training and Reference Centre for Food and Pesticide Control. Joint FAO/IAEA Division, Sweden

3. Shelby R.A., White, D.G., Bauske, E.M. : Differential fumonisin production in maize hybrids. Plant Dis. 78:582 – 584, 1994 .
4. Miller J.D. : Factors affecting the occurrence of fumonisins in corn . Abstract of papers (p.21) International Conference on the toxicology of Fumonisin, June 28-30, 1999 , Arlington,VA.
5. Bacon C.W. i Nelson,P.E. : Fumonisin production in corn by toxigenic strains of Fusarium moniliforme i Fusarium proliferatum. J.Food Prot. 57(6): 514 -521, 1994.
6. Thiel, P.G., Marasas, W.F.O., Sydenham, E.W., Shephard, G.S. and Gelderblom, W.C.A. The implications of naturally occurring levels of fumonisins in corn for human and animal health. Mycopathologia 117:3-9, 1992.
7. Directorate-General Health and Consumer Protection : Collection of Occurrence data of Fusarium toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU Members States , Report of experts participating in Task3.2.10, 1-606 , travanj 2003
8. Laboratories for Mycotoxin Analysis (PPFS-MISC-1). Može naći na <<http://www.ca.uky.edu/agcollege/plantpathology/PPAExten/PPFShtml/ppfmisc1.htm>>.
9. <http://www.nps.ars.usda.gov>
10. [http://www.mold-help.org/pages/submenus/research/fungi\\_mycotoxins\\_currentresearch.htm](http://www.mold-help.org/pages/submenus/research/fungi_mycotoxins_currentresearch.htm)