

Estrogeni učinci zearalenona u farmskih životinja i opasnosti za zdravlje ljudi i životinja



Marko Samardžija*, Ana Jeličić, Mario Mitak i Jelka Pleadin

Uvod

Žitarice i proizvodi od žitarica u ljudskoj su prehrani, kao i u hranidbi životinja, među najzastupljenijim komponentama, međutim i vrlo pogodna sirovina za razvoj plijesni producenata mikotoksina. FAO (*The Food and Agriculture Organization*) navodi da je oko 25% svjetske proizvodnje žitarica kontaminirano mikotoksinima koji mogu značajno utjecati na zdravlje ljudi i životinja. Kontaminacija mikotoksinima javlja se još u polju, tijekom žetve i transporta te skladištenja (Coffey i sur., 2009.). Problem je naročito izražen tijekom kišovitih godina kada drastično poraste postotak kontaminacije plijesnima te posljedična tvorba mikotoksina (Pleadin i sur., 2013.). Razina kontaminacije primarno ovisi o prirodnim uvjetima i to o sadržaju vlage, temperaturi, relativnoj vlažnosti zraka i pH vrijednosti, koji mogu pogodovati rastu plijesni i posljedično produkciji mikotoksina (Janssen i sur., 1997.).

Istraživanja su pokazala da mikotoksini prouzroče mikotoksikoze, bolesti koje imaju genotoksično, nefrotoksično, citotoksično, estrogeno i teratogeno djelovanje u brojnim organizmima. Toksični

učinci mikotoksina za posljedicu imaju narušavanje zdravlja ljudi i životinja, povećane troškove zdravstvene skrbi, smanjenje proizvodnih rezultata životinja, zbrinjavanje onečišćene hrane i hrane za životinje te ulaganje u brojna znanstvena istraživanja s ciljem smanjenja kontaminacije ovim tvarima. U životinja, toksični učinak ovisi o vrsti i kategoriji, a posebno su osjetljive monogastrične životinje, primjerice svinje. Preživači su u pravilu otporniji na negativne učinke mikotoksina, budući da mikroorganizmi u buragu imaju sposobnost njihove razgradnje do manje toksičnih spojeva (Hussein i Brasel, 2001.).

Unutar skupine fuzarijskih mikotoksina najznačajniji su oni koji utječu na zdravlje i produktivnost životinja, među kojima je vrlo značajan trihotecenski mikotoksin zearalenon (ZEN) (D'Mello i MacDonald, 1997.). Zearalenon je metabolit plijesni iz roda *Fusarium*, koji je po svojoj kemijskoj strukturi sličan estrogenim hormonima te vezujući se za estrogene receptore ostvaruje i estrogene učinke u organizmu. Izloženost zearalenonu rezultira poremećajima urogenitalnog

Dr. sc. Marko SAMARDŽIJA*, dr. med. vet., redoviti profesor, (dopisni autor, e-mail: smarko@vef.hr), Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Hrvatska; Ana JELIČIĆ, dr. med. vet., Hrvatska; dr. sc. Mario MITAK, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, dr. sc. Jelka PLEADIN, dipl. ing. biotehnol., naslovna izvanredna profesorica, znanstvena savjetnica, Hrvatski veterinarski institut Zagreb, Hrvatska

sustava, dok jača akutna ili kronična otrovanja ostavljaju trajne posljedice na organima reproduktivnog sustava u vidu degenerativnih promjena testisa ili jajnika (atrofija), steriliteta te pobačaja.

Zearalenon se kao i ostali fuzarijski mikotoksini pojavljuje u žitaricama koje rastu u područjima umjerene klime. Višegodišnja istraživanja provedena u Hrvatskoj ukazuju na učestala onečišćenja hrane (žitarica) i hrane za životinje (krmiva i krmnih smjesa) ovim mikotoksinom (Pepeljnjak i Šegvić, 2004., Domijan i sur., 2005., Pleadin i sur., 2012.a, Pleadin i sur., 2013.). Ujedno, rezultati istraživanja govore o visokoj pojavnosti zearalenona te upućuju na nužnost sustavne kontrole i prevencije onečišćenja ovim mikotoksinom kako bi se smanjili ekonomski gubici u prehrambenoj industriji i stočarskoj proizvodnji. Isto tako, kako bi se spriječili negativni učinci za zdravlje ljudi i životinja, nužna je primjena dekontaminacijskih metoda, ukoliko i dođe do kontaminacije (Pleadin i sur., 2015.a).

Svojstva i metabolizam zearalenona

Mikotoksin zearalenon nekada je nazivan F-2 toksinom, a kemijski naziv spoja mu je (3S,11E)-14,16-dihidroksi-3-metil-3,4,5,6,9,10-heksahidro-1H-2-benzoksaciklotetradecin-1,7(8H)-dion. Pripada u skupinu makrocikličnih laktona, a izoliran je 1962. godine iz kulture plijesni *Giberella zeae* (spolni stadij plijesni *Fusarium graminearum*) (Bennet i Klich, 2003.). Metabolit je različitih vrsta iz roda *Fusarium* i to: *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. graminearum* i *F. moniliforme* (Chelkowski, 1998.). Zearalenon pripada skupini fitoestrogena, koji predstavljaju komponente prirodno prisutne u biljkama, čija je zajednička karakteristika kemijska sličnost s prirodnim i sintetičkim hormonima estrogenima. U prirodi se uobičajeno nalazi u zrnju

kukuruzu s visokim sadržajem vode, onečišćenim ponajprije s *Fusarium roseum* i to u kasnu jesen i zimu.

Najintenzivniji rast plijesni roda *Fusarium* odvija se pri temperaturi 18-24 °C te relativnoj vlažnosti zraka većoj od 70%. Za aktivaciju enzima uključenih u sintezu toksina potrebna je niža početna temperatura (Abramson, 1998.). Optimalna pH vrijednost medija za rast plijesni te sintezu zearalenona je 4 do 6,5. Temperaturne oscilacije između 15 i 30 °C pogoduju rastu nekih vrsta *Fusarium*, npr. *F. Graminearum* te u konačnici rezultiraju povećanom sintezom ovog mikotoksina. Zearalenon je termostabilan, topljiv u vodenim alkalijama, eteru i alkoholu, a nije topljiv u vodi, ugljikovom disulfidu i ugljikovom tetrakloridu; brzo se apsorbira nakon oralnog uzimanja, a izlučuje se putem žuči; stabilan je tijekom skladištenja, mljevenja i prerade, a ne razgrađuje se ni pri visokim temperaturama (Zollner i sur., 2002., Alexander i sur., 2004.).

Zearalenon unesen oralno kontaminiranom hranom kroz strukturalne promjene može proći prije apsorpcije (ingestivna razina), na apsorpcijskoj razini (mukoze, sluznice) te nakon apsorpcije (metabolička razina). Na razini apsorpcije i nakon apsorpcije odvija se redukcija zearalenona, dok daljnje izmjene rezultiraju oksidativnim i konjugiranim oblicima njegovih metabolita (Dänicke i Winkler, 2015.). Na slici 1. prikazane su strukturne formule zearalenona i najznačajnijih metabolita.

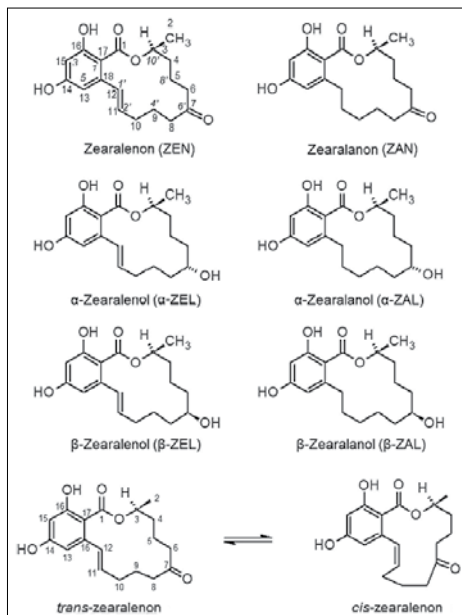
Dva su glavna biotransformacijska puta zearalenona u životinja, a to su hidrosilacija te konjugacija zearalenona i njegovih reduciranih metabolita s glukuronskom kiselinom. Hidrosilacija rezultira formiranjem α -zearalenola (α -ZEN) i β -zearalenola (β -ZEN), a katalizirana je 3α - i 3β -hidroksisteroid dehidrogenazom, dok konjugaciju zearalenona i njegovih reduciranih metabolita s glukuronskom kiselinom

katalizira uridindifosfat glukuronil transferaza. α -zearalenol je tri do četiri puta toksičniji od zearalenona, dok je aktivnost β izomera približno jednaka ovom mikotoksinu (Zinedine i sur., 2007.). Nakon oralnog unosa, zearalenon se brzo apsorbira, a u jetri prevodi u dva različita izomera - ZEL (α i β) i ZAN (zearalanon) te se koncentracija zearalenona u jetri smanjuje. Mjesto biotransformacije ovog spoja u organizmu razlikuje se ovisno o životinjskoj vrsti. Iz tijela životinje većina (>90%) mikotoksina se ipak izluči (Alldrick i Hajšelová, 2004.), a istraživanja su pokazala da svinje izlučuju metabolite zearalenona u većim koncentracijama u odnosu na goveda i to najviše putem urina (Mirocha i sur., 1981.).

Pojavnost u krmivima i krmnim smjesama

Pojavnost zearalenona kao prirodnog kontaminanta hrane i hrane za životinje najvažnija je u zrnju kukuruza, pšenice, zobi, ječma, a potom u riži, raži, soji, sezamu, brokuli, hmelju i kupusu. Do kontaminacije dolazi na polju, no rast plijesni i tvorba toksina nastavlja se i tijekom skladištenja, naročito ako je ono neprikladno (Zinedine i sur., 2007.). Najveće dopuštene količine u hrani definirane su Uredbom Komisije (EZ) o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani (Uredba komisije 1881/2006), dok su za hranu za životinje definirane najveće preporučene količine zearalenona u krmivima i različitim vrstama krmnih smjesa (Commission Recommendation 2006/576/EC).

U hranidbi svinja i peradi koriste se već prethodno pripremljene krmne smjese koje se po sastavu razlikuju ovisno o fazi proizvodnje. Uglavnom se sastoje od žitarica, koje čine najveći dio smjese, potom proteinskih krmiva, minerala i masti, a sam sastav ovisi o zahtjevima uzgajivača. Hranidba



Slika 1. Kemijska struktura zearalenona i najznačajnijih metabolita [Danicke i Winkler, 2015.]

se preživača sastoji od hranidbe koncentratom i voluminoznim krmivom u različitim omjerima, što primarno ovisi o tipu proizvodnje. Tabela 1. daje pregled istraživanja kontaminacije žitarica i krmiva u Hrvatskoj, gdje su u vlažnim godinama, odnosno za vrijeme produljenih zima i temperaturnih oscilacija utvrđene značajno veće koncentracije zearalenona, odnosno pojavnost ovog mikotoksina pokazala je značajnu ovisnost o vremenskim prilikama te stoga i široku varijabilnost po godinama provedbe istraživanja.

Učinci u farmских životinja

Poznato je da su učinci zearalenona u životinja ovisni o vrsti i količini žitarica koje se koriste u sastavljanju obroka, vrsti i dobi životinje te tipu i fazi proizvodnje u kojoj se životinje nalaze (EFSA, 2004.). Zearalenon i njegovi metaboliti poznati su po estrogenim i anaboličkim svojstvima. Uslijed izloženosti farmских životinja

Tabela 1. Utvrđene količine zearalenona (ZEN) u krmivu i žitaricama na području Republike Hrvatske

Godina	Materijal	Količina ZEN ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Literatura
1984./85.	žitarice	560-3000	Pepeljnjak i Cvetnić, 1986.
1984./85.	krmivo	100-1200	Pepeljnjak i Cvetnić, 1986.
1985.	krmivo	100-6880	Nemanič i sur., 1986.
1988.-1997.	krmivo, kukuruz	150-1200	Pepeljnjak i sur., 1999.
1990.-1999.	krmivo	50-1200	Mitak i sur., 2001.
1991.	žitarice	1-19900	Pepeljnjak i sur., 1992.
1992.-1995.	kukuruz, žitarice	23-10700	Pepeljnjak i sur., 1999.
1998.-2001.	kukuruz	200-2700	Pepeljnjak i sur., 2002.
2002./03.	kukuruz	0,43-39	Domijan i sur., 2005.
2004./05.	kukuruz	6030-29430	Šegvić Klarić i sur., 2007.
2006./07.	žitarice, krmivo	27,7-1182	Pepeljnjak i sur., 2008.
2010.	kukuruz	2-5100	Pleadin i sur., 2012.b
2011.	krmna smjesa za svinje	8,93-866	Pleadin i sur., 2012.b
2011.	kukuruz, pšenica, ječam, zob	10-611; 7-107; 5-68; 4-43	Pleadin i sur., 2013.
2014.	kukuruz, pšenica, ječam, silaža, stočna hrana	2,21-5522; 4,72-3366; 2,30-8,07; 3,28-753 2,17-1949	Pleadin i sur., 2015.b.

dolazi do atrofije jajnika, sjemenika, prostate, sjemenskih vezikula te inhibicije prednjeg režnja hipofize i hipotalamusa. Učinak ovog mikotoksina dovodi do morfoloških i funkcionalnih poremećaja reproduktivnih organa i oštećenja spolnih stanica domaćih životinja, što rezultira hiperestrogenizmom u goveda, svinja i peradi (Mitterbauer i sur., 2003.).

Zearalenon i njegovi derivati vežu se za estrogene receptore u citoplazmi stanica spolnih organa pri čemu nastaje fiziološki odgovor stanica sličan djelovanju prirodnog estrogena 17- β -estradiola, a čije se vezanje za receptore citosola uterusa pritom inhibira (Alexander i sur., 2004.). Opisano je više simptoma izloženosti zearalenonu u domaćih životinja, među kojima su produljenje trajanja estrusa, smanjenje libida, neplodnost životinja, mumifikacija fetusa, pobačaji, mrtvorodenosti i smanjenje legla (Visconti i Pascale, 1998.), a klinički znaci razlikuju se ovisno o

vrsti, starosti i reproduktivnom statusu životinje (Mitterbauer i sur., 2003.). Na pokusnim životinjama dokazano je da ovaj mikotoksin kroz placentu prelazi u fetus (El-Makawy i sur., 2001.). Osim estrogenog učinka, zearalenon inhibira lučenje folikulostimulirajućeg hormona (FSH), potiskuje razvoj folikula ovarija, inhibira proces ovulacije te ima luteotropan učinak, što prouzroči retenciju žutog tijela, pseudograviditet i anetriju (Osweiler, 1996., Gaffoor i Trail, 2006.). Budući da je utvrđeno da u životinja ovaj mikotoksin djeluje i kao promotor tumora, Međunarodna agencija za istraživanje raka svrstala ga je u skupinu 3 (IARC, 1999.).

Kod težih oblika otrovanja dolazi do prolapsusa rodnice i rektuma, paralize stražnjih nogu i smrti. Zearalenon se u svinja predominantno reducira u α -zearalenon, stoga su biokonverzija u α -zearalenon i enterohepatična recirkulacija zearalenona mehanizmi

Tabela 2. Utjecaj zearalenona na reprodukciju farmских životinja

Farmske životinje	Doza ZEN (mg/kg)	Klinički znaci	Literatura
Svinje			
Prasad, nazimice	< 10	edem stidnice, estrus, produženi interval između ciklusa	Edwards i sur., 1987.a, Edwards i sur., 1987.b
Gravidne krmače	25	mali broj živooprasene prasadi, pseudograviditet	Edwards i sur., 1987.b, Gutzwiller i sur., 2009., Kanora, 2009.
Krmače u laktaciji	> 50	promijenjen estrusni ciklus, atrofija jajnika	Edwards i sur., 1987.a
Nerasti	< 10	smanjena pokretljivost spermija	Tsakmakidis i sur., 2008., Gutzwiller i sur., 2009.
	> 20	smanjeni libido i veličina testisa	Gutzwiller i sur., 2009.
Goveda			
Junice	5	edem vimena, vaginitis, smanjena koncepcija	Zinedine i sur., 2007., Kanora, 2009.
Krave	10-20	smanjena koncepcija, pobačaj	Zinedine i sur., 2007., Kanora, 2009.

koji čine svinju vrlo osjetljivom na hranu kontaminiranu ovim mikotoksinom (Dänicke i sur., 2005., Malekinejad i sur., 2006., Luongo i sur., 2008., Tsakmakidis i sur., 2008.). U mladih nazimica, kao najosjetljivijih životinja, već male doze, 1,5 do 2 mg/kg, prouzroče hiperemiju i otečenje stidnice, atrofiju jajnika i povećanje maternice, a ponekad čak i prolapsus rodnice (Edwards i sur., 1987.a). U krmača su potrebne veće doze koje prouzroče slične kliničke znakove. U njih je zabilježena nimfomanija, pseudograviditet, atrofija jajnika i degenerativne promjene na endometriju. U krmača i nazimica, zearalenon prouzroči degenerativne promjene i ugibanje jajnih stanica u Graafovom folikulu pa iako dolazi do estrusa izostaje ovulacija. U dozi od 200 µg/kg tjelesne težine, zearalenon smanjuje preživljavanje embrija i porođajnu težinu prasadi (Dänicke i sur., 2005.). U nerasta prouzroči smanjenje koncentracije testosterona, težine testisa i smanjenu spermatogenezu pa nerasti pokazuju

karakteristike feminizacije (atrofija testisa i povećanje mliječnih žlijezda) i smanjeni libido (Miraglia i sur., 1998., Pepeljnjak i sur., 2008.). Visoke doze u goveda mogu dovesti do neplodnosti i hiperstrogenizma, a u ovaca i koza vrlo visoke doze zearalenona dovode do smanjenja postotka ovulacije i plodnosti. (Kanora, 2009.). U tabeli 2 prikazani su učinci djelovanja zearalenona na reprodukciju farmских životinja.

Ostatci u hrani životinjskog podrijetla

Učinak „carryover“ označava prijenos mikotoksina iz hrane za životinje u jestiva životinjska tkiva ukoliko su u hranidbi korištena krmiva kontaminirana mikotoksinima. Određivanje stope prijenosa mikotoksina općenito služi u procjeni rizika za potrošača, a definiran je kao omjer koncentracije mikotoksina u hrani životinjskog podrijetla i hrani za životinje (Dänicke i Brezina, 2013.). Na temelju podataka iz literature

o prijenosu zearalenona u mlijeko, utvrđeno je da hrana životinjskog podrijetla ne predstavlja znatan rizik za potrošača, budući da je najveća utvrđena stopa prijenosa u mlijeko iznosila 1,92% (Galtier, 1998., Coffeey i sur., 2009., Dänicke i Winkler, 2015.). U istraživanju Pleadin i sur. (2015.b) o razinama zearalenona u svinjskom mesu, dobivenom od svinja uzgajanih na farmama u Hrvatskoj tijekom 2014. godine na kojima je utvrđena visoka kontaminacija zearalenonom te hiperestrogenizam, određena je količina ovog mikotoksina u mesu u rasponu od 1,09 do 4,31 $\mu\text{g}/\text{kg}$, a što isto tako ne predstavlja znatne količine ovog mikotoksina u mesu te stoga niti opasnost za zdravlje potrošača.

Međutim, ranije objavljeni podatci pokazuju da je u Portoriku zearalenon nađen u krvi djevojčica s preuranjenim spolnim sazrijevanjem (Saenz i Rodriguez, 1984.), koje su konzumirale pileće meso životinja hranjenih kukuruzom koji je bio kontaminiran ovim mikotoksinom. Krajem devedesetih godina u Mađarskoj je primijećena povećana učestalost početka puberteta u djevojčica (prije osme godine), odnosno bolovi u području dojki i/ili povećanje dojki u dječaka (Szuets i sur., 1997.). U nekim regijama Južne Afrike i Kine tumor jednjaka dovodio se u vezu s kukuruzom kontaminiranim *F. moniliforme* i *F. graminearum*, odnosno mikotoksinima koje produciraju ove plijesni (fumonizina i zearalenona) (Beardall i Miller, 1994.). Pojedini autori navode da bi zbog estrogenog učinka ovog mikotoksina ženama s tumorom dojke trebalo ograničiti konzumaciju kukuruza, iz razloga što zearalenon može stimulirati ovaj tumor (Shier i sur., 2001.).

Svakako, istraživanja o zdravstvenom riziku za potrošače po pitanju zearalenona uglavnom upućuju na izravnu izloženost potrošača, uglavnom kao posljedicu konzumacije kontaminiranih žitarica i proizvoda na bazi žitarica namijenjenih

ljudskoj uporabi (Pleadin i sur., 2015.a,b). Kako je prinos fuzarijskih mikotoksina u hranu životinjskog podrijetla (primarno mlijeko i meso) općenito nizak, za ove namirnice smatra se da ne predstavljaju znatnu opasnost za zdravlje ljudi i kada su farmske životinje hranidbom primale stočnu hranu kontaminiranu ovim mikotoksinima (Prelusky i sur., 1990.). Međutim, učinak mikotoksina ne može se promatrati pojedinačno, nego je važno sagledati mogućnost sinergijskih učinaka većeg broja mikotoksina koji mogu biti prisutni u hrani ili hrani za životinje namijenjenoj prehrani ljudi, odnosno hranidbi životinja.

Putem sustava žurnog uzbunjivanja za hranu i hranu za životinje (RASFF; *The Rapid Alert System for Food and Feed*) na razini Europske unije provodi se informiranje javnosti kada su u nekom proizvodu određene količine mikotoksina veće od zakonodavstvom dopuštenih. Sustav obavještavanja javnosti o opasnostima i rizicima te sustavno pristupanje utvrđivanju količina mikotoksina u hrani i hrani za životinje od važnosti je za sprječavanje dolaska hrane onečišćene mikotoksinima na tržište.

Prevenција i dekontaminacija

U lancu proizvodnje hrane i hrane za životinje najbolja kontrola mikotoksina odnosi se na prevenciju njihova nastanka još na polju. Žitarice su vrlo pogodan supstrat za rast plijesni pa tako i za onečišćenje njihovim sekundarnim produktima, odnosno mikotoksinima. U većini se slučajeva radi o kukuruzu, a potom žitaricama malog zrna (pšenica, sijerak, zob, ječam, raž) i uljaricama (kikiriki, sjeme pamuka). Kontaminacija se uglavnom ne može potpuno spriječiti, no postoje različite preventivne mjere pomoću kojih se može svesti na najmanju moguću količinu (Pleadin i sur., 2014.). Rast plijesni je moguće spriječiti na

različite načine i prije i nakon žetve, a neke od preventivnih mjera su: uporaba hibrida žitarice otpornijih na plijesni; pravilan plodored; prikladno vrijeme sjetve i vrijeme berbe, budući da se kasne sorte žitarica lakše inficiraju plijesnima tijekom vlažne jeseni; pravovremena primjena fungicida; odabir prikladnog plodoređa; primjena separatora pomoću kojih se uklanjaju oštećena i pljesniva zrna; prikladna gnojidba, budući da gnojidba s previše dušika povećava osjetljivost na plijesni potrebno je provesti analizu tla prije prihrane biljaka; adekvatno skladištenje uz optimalnu temperaturu i vlažnost žitarica (Binder, 2007.). Svakako, kako bi se izbjegli negativni učinci ovog mikotoksina za zdravlje ljudi neophodna je njegova sustavna kontrola u hrani i hrani za životinje.

U slučaju onečišćenja sirovina, potrebna je primjena ciljanih mjera redukcije, odnosno dekontaminacije, koje bi trebale učinkovito inaktivirati ili u potpunosti ukloniti mikotoksin, a da pritom ne naruše nutritivna i tehnološka svojstva proizvoda te nestvaraju reaktivne toksične produkte. Općenito se metode redukcije mogu podijeliti na: kemijske, biološke i fizikalne (Kabak i sur., 2006.). Najznačajnija je primjena adsorptivnih tvari, a pojedini adsorbensi su se pokazali veoma učinkovitim u vezivanju i redukciji pojedinih mikotoksina (Ramos i sur., 1996.). Od fizikalnih metoda značajna je primjena visokih temperatura, UV, α i γ -zraka te mikrovalova. Kemijske metode redukcije uključuju primjenu različitih kemijskih sredstava, poput: kiselina, baza, reducirajućih sredstava, kloridnih sredstava, oksidantata i formaldehida, no njihova primjena je često neučinkovita i skupa pa se stoga rijetko primjenjuju (Visconti i sur., 1996.). Biološke metode podrazumijevaju korištenje određenih sojeva bakterija mliječne kiseline, propionskih bakterija i bifidobakterija sa strukturom stanične stijenke koja može vezati mikotoksine

te na taj način u organizmu ograničiti biorasploživost. Iako manje učinkovite, u dekontaminaciji se koriste i alternativne metode koje podrazumijevaju mikrobnu ili enzimatsku detoksifikaciju, a pojedini kvasci i plijesni imaju i sposobnost razgradnje mikotoksina (Pleadin i sur., 2015.a).

Zaključak

Učinak estrogenog djelovanja zearalenona na farmske životinje može se promatrati po pitanju hranjivih sastojaka stočne hrane, proizvodnje životinja i čovjeka kao krajnjeg potrošača. Kad je u pitanju hranjivost sastojaka, razvoj plijesni može umanjiti hranidbenu vrijednost hrane za životinje. Nadalje, kontaminacija zearalenonom prouzroči umanjeni reproduktivni potencijal farmских životinja i povećati pojavnost bolesti. Kad je u pitanju kontaminacija hrane, većina se mikotoksina postupno kumulira u mesu i mlijeku životinja i na taj način, zajedno s ostalim mikotoksinima i izvorima kontaminacije kao što su žitarice i proizvodi na bazi žitarica, koje potrošači učestalo konzumiraju, može predstavljati izravnu opasnost za zdravlje ljudi koji se nalazi na kraju prehrambenog lanca. Stoga je važno sagledati moguće sinergijske učinke većeg broja mikotoksina koji mogu biti prisutni u hrani ili hrani za životinje namijenjenih prehrani ljudi. Osim sustavne kontrole mikotoksina u hrani i u hrani za životinje, nužno je preventivno djelovanje u vidu metoda sprječavanja onečišćenja plijesnima i rasta plijesni, a ukoliko do kontaminacije i dođe nužna je primjena učinkovitih metoda detoksikacije, odnosno dekontaminacije onečišćenih sirovina i proizvoda.

Sažetak

Zearalenon je mikotoksin, metabolit plijesni iz roda *Fusarium*. Žitarice i proizvodi

na bazi žitarica su u ljudskoj prehrani, kao i u hranidbi životinja, među najzastupljenijim komponentama, a ujedno i vrlo pogodna sirovina za razvoj plijesni koje tvore mikotoksine. Izloženost farmских životinja ovom mikotoksinu dovodi do poremećaja urogenitalnog sustava, dok jača akutna ili kronična izloženost prouzroče trajne posljedice na organima reproduktivnog sustava u vidu degenerativnih promjena testisa, jajnika (atrofija), steriliteta te pobačaja. Prijenos fuzarijskih mikotoksina u hranu životinjskog podrijetla (primarno mlijeko i meso) je općenito nizak te se stoga smatra da ove namirnice ne predstavljaju znatnu opasnost za zdravlje ljudi, ukoliko su farmske životinje unosile hranu kontaminiranu ovim mikotoksinima. Međutim, važan problem može predstavljati prisutnost zearalenona i njegovih metabolita u hranu životinjskog podrijetla te sinergijski učinak više različitih mikotoksina i brojnih metabolita u organizmu koji su po svojoj kemijskoj strukturi slični estrogenim hormonima te njihova pojavnost u hrani biljnog podrijetla koju potrošači učestalo konzumiraju. Kako bi se izbjegli negativni učinci zearalenona i ostalih fuzarijskih mikotoksina za zdravlje ljudi i životinja neophodno je sprječavanje rasta plijesni, sustavna kontrola hrane i hrane za životinje. Ukoliko do kontaminacije i dođe, nužna je i primjena efikasnih metoda detoksikacije, odnosno dekontaminacije onečišćenih sirovina i proizvoda.

Ključne riječi: mikotoksini, zearalenon, kontaminacija, estrogeni učinci, hrana i hrana za životinje

Literatura

- ABRAMSON, D. (1998): Mycotoxin formation and environmental factors. In: Mycotoxins in Agriculture and Food safety, Sinha K. K., Bhatnagar, D., Marcel Dekker, New York, pp. 255-277.
- ALEXANDER, J., H. AUTRUP and D. BARD (2004): Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Zearalenone as undesirable substance in animal feed. The EFSA Journal 89, 1-35.
- ALLDRICK, A. J. and M. HAJŠELOVÁ (2004): In: Mycotoxins in Food: Detection and Control. (Magan, N., Olsen, M. eds.), Woodhead Publishing, Cambridge, England.
- Anon. (1999): IARC, Overall evaluations of carcinogenicity to humans. IARC Monographs 73, 1-36.
- Anon. (2004): EFSA Journal, Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Zearalenone as undesirable substance in animal feed. The EFSA Journal 89, 1-35.
- Anon. (2006): EC, Commission recommendation of 17 August 2006 on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding. Off. J. Eur. Union L. 234-235.
- BEARDALL, J. M. and J. D. MILLER (1994): Diseases in humans with mycotoxins as possible causes. In: Miller J. D. and Trenholm H. L. (Eds.), Mycotoxins in grain. Compounds other than aflatoxins. Eagan Press, Pt. Paul (MN) USA, pp. 487-539.
- BENNET, J. W. and M. KLICH (2003): Mycotoxins. Clin. Microbiol. Rev. 16, 497-516.
- BINDER, E. M. (2007): Managing the risk of mycotoxins in modern feed production. Anim. Feed Sci. Technol. 133, 149-166.
- CHELKOWSKI, J. (1998): Fusarium and mycotoxins. In: Mycotoxins in Agriculture and Food Safety. (Sinha, K. S. i Bhatnagar, D., eds.), New York, Marcel Dekker. Pp. 45-64.
- COFFEY, R., E. LUMMINS and S. WARD (2009): Exposure assessment of mycotoxins in dairy milk. Food control 20, 239-249.
- DÄNICKE, S., E. SWIECH, L. BURACZEWSKA and K. H. UEBERSCHAR (2005): Kinetics and metabolism of zearalenone in young female pigs. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.) 89, 268-276.
- DÄNICKE, S. and J. WINKLER (2015): Invited review: Diagnosis of zearalenone (ZEN) exposure of farm animals and transfer of its residues into edible tissues (carry over). Food Chem. Toxicol. 84, 225-249.
- DÄNICKE, S. and U. BREZINA (2013): Kinetics and metabolism of the Fusarium toxin deoxynivalenol in farm animals: Consequences for diagnosis of exposure and intoxication and carry over. Food Chem. Toxicol. 60, 58-75.
- D'MELLO, J. P. F. and A. M. C. MacDONALD (1997): Mycotoxins. Anim. Feed Sci. Technol. 69, 155-166.
- DOMIJAN, A.-M., M. PERAIKA, Ž. JURJEVIĆ, D. IVIĆ and B. CVJETKOVIĆ (2005): Fumonisin B1, fumonisin B2, zearalenone and ochratoxin A contamination of maize in Croatia. Food Add. Contam. 22, 677-680.
- EDWARDS, S., T. C. CANTLEY and B. N. DAY (1987a): The effects of zearalenone on reproduction in swine. II. The effect on puberty attainment and postweaning rebreeding performance. Theriogenology 28, 51-58.
- EDWARDS, S., T. C. CANTLEY, G. E. ROTTINGHAUS, G. D. OSWEILER and B. N. DAY (1987b): The effects of zearalenone on reproduction in swine. I. The relationship between ingested zearalenone dose and anestrus in non-pregnant, sexually mature gilts. Theriogenology 28, 43-49.
- EL-MAKAWY, A., M. S. HASSANANE and E. S. ABD ALLA (2001): Genotoxic evaluation for the estrogenic mycotoxin zearalenone. Reprod. Nutr. Dev. 41, 79-89.

20. GAFFOOR, I. and F. TRAIL (2006): Characterization of two polyketide synthase genes involved in zearalenone biosynthesis in *Gibberella zeae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 1793-1799.
21. GALTIER, P. (1998): Biological fate of mycotoxins in animals. *Rev. Méd. Vét.-Toulouse* 149, 549-554.
22. GUTZWILLER, A., J. L. GAFNER and P. STOLL (2009): Effects of a diet containing fusarium toxins on the fertility of gilts and on bulbourethral gland weight in barrows. *Arch. Anim. Nutr.* 63, 16-25.
23. HUSSEIN, S. H. and M. BRASEL (2001): Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology* 167, 101-134.
24. JANSSEN, M. M. T., H. M. C. PUT and M. J. R. NOUT (1997): Natural toxins. In: DE VRIES, J.: *Food Safety and Toxicity*. CRC Press LCC, Florida (Chapter II).
25. KABAK, B., A. D. W. DOBSON and I. VAR (2006): Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 46, 593-619.
26. KANORA, A. M. D. (2009): The role of mycotoxins in pig reproduction: a review. *Vet. Med.* 54, 565-576.
27. LUONGO, D., R. DE LUNA, R. RUSSO and L. SEVERINO (2008): Effects of four *Fusarium* toxins (fumonisin B(1), alpha-zearalenol, nivalenol and deoxynivalenol) on porcine whole-blood cellular proliferation. *Toxicol. 52*, 156-162.
28. MALEKINEJAD, H., R. MAAS-BAKKER and J. FINK-GREMMELS (2006): Species differences in the hepatic biotransformation of zearalenone. *Vet. J.* 172, 96-102.
29. MIRAGLIA, M., H. P. EGMOND, C. BRERA and J. GILBERT (1998): *Mycotoxins and Phycotoxins in chemistry, toxicology and food safety*; Alaken Inc. Fort Collins, Colorado, pp. 363-397.
30. MIROCHA, C. J., S. V. PATHRE and T. S. ROBISON (1981): Comparative metabolism of zearalenone and transmission into bovine milk. *Food Cosmet. Toxicol.* 19, 25-30.
31. MITAK, M., T. GOJMERAC, P. PAVIČIĆ i S. TOPOLKO (2001): Kontaminacija krmiva i krmnih smjesa za svinje zearalenonom u razdoblju od 1990. do 1999. godine. *Vet. stn.* 32, 205-209.
32. MITTERBAUER, R., H. WEINDORFER, R. SAFAIE, M. LEMMENS, P. RUCKENBAUER, K. KUCHLER and G. ADAM (2003): A sensitive and inexpensive yeast bioassay for the mycotoxin zearalenone and other compounds with estrogenic activity. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 805-811.
33. NEMANIĆ, A., V. BRLEK, D. RAMLJAK and D. MATEŠIĆ (1986): Incidence of mycotoxins in feeds and feed mashes for poultry and other domestic animals. In: Ožegović, L. (ed.) *Special publications: second symposium on mycotoxins*. Book LXXX, Academy of sciences and arts of Bosnia and Hercegovina, Sarajevo, pp. 51-57.
34. OSWEILER, G. D. (1996): *Toxicology, The national veterinary medical series for independent study: Zearalenone*. Lippincott Williams & Wilkins, USA.
35. PEPELJNJAK, S. and M. ŠEGVIĆ (2004): An overview of mycotoxins and toxigenic fungi in Croatia. In: A. Logrieco, & A. Visconti (Eds.), *An overview of toxigenic fungi and mycotoxins in Europe*. pp. 33-50.
36. PEPELJNJAK, S., M. ŠEGVIĆ and Z. CVETNIĆ (2002): Mycotoxicological contamination of stored agricultural products in Croatia (30-year review). In: Korunić, Z. (ed.) *Disinfection, disinfection, deratization and protection of stored agricultural products*, Korunić Press, Zagreb, pp. 97-110.
37. PEPELJNJAK, S., Y. UENO and T. TANAKA (1992): Mycological situation and occurrence of fusariotoxins in cereals from endemic nephropathy region in Croatia. *Microbiol. Aliment. Nutr.* 10, 191-197.
38. PEPELJNJAK, S., Z. CVETNIĆ (1986): Mycological and mycotoxicological contamination of grains in a wide anephrotoxic area of SR Croatia. In: Ožegović, L. (ed.) *Special publications: second symposium on mycotoxins*. Book LXXX, Academy of sciences and arts of Bosnia and Hercegovina, Sarajevo, pp. 29-41.
39. PEPELJNJAK, S., Z. CVETNIĆ i M. ŠEGVIĆ KLARIĆ (2008): Okratoksin A i zearalenon: Kontaminacija žitarica i krmiva u Hrvatskoj (1977-2007) i utjecaj na zdravlje životinja i ljudi. *Krmiva* 50, 147-159.
40. PEPELJNJAK, S., Z. CVETNIĆ and V. BRLEK (1999): Storage fungi and mycotoxins in Croatian storages. In: Korunić, Z. (ed.) *Protection of stored agricultural products*. Korunić Press, Zagreb, pp. 51-64.
41. PLEADIN, J., A. VULIĆ, N. PERŠI, M. ŠKRIVANKO, B. CAPEK and Ž. CVETNIĆ (2014): Aflatoxin B1 occurrence in maize sampled from Croatian farms and feed factories during 2013. *Food Control* 40, 286-291.
42. PLEADIN, J., M. SOKOLOVIĆ, N. PERŠI, M. ZADRAVEC, V. JAKI and A. VULIĆ (2012a): Contamination of maize with deoxynivalenol and zearalenone in Croatia. *Food Control* 28, 94-98.
43. PLEADIN, J., M. ZADRAVEC, N. PERŠI, A. VULIĆ, V. JAKI and M. MITAK (2012b): Mould and mycotoxin contamination of pig feed in northwest Croatia. *Mycotoxin Res.* 28, 157-162.
44. PLEADIN, J., N. VAHČIĆ, N. PERŠI, D. ŠVELJ, K. MARKOV and J. FRECE (2013): *Fusarium* mycotoxins occurrence in cereals harvested from Croatian fields. *Food Control* 32, 49-54.
45. PLEADIN, J., J. FRECE, V. VASILJ and K. MARKOV (2015a): Fuzarijski mikotoksini u hrani i hrani za životinje. *Croat. J. Food Technol. Biotechnol. Nutrit.* 10, 6-13.
46. PLEADIN, J., Ž. MIHALJEVIĆ, T. BARBIR, A. VULIĆ, I. KMETIČ, M. ZADRAVEC, V. BRUMEN and M. MITAK (2015b): Natural incidence of zearalenone in Croatian pig feed, urine and meat in 2014. *Food Add. Contam.* 8, 277-283.
47. PRELUSKY, D. B., P. M. SCOTT, H. TRENHOLM and G. A. LAWRENCE (1990): Minimal transmission of zearalenone to milk of dairy cows. *J. Environ. Sci. Health, Part B*, 25, 87-103.
48. RAMOS, A. J., J. FINK-GREMMELS and E. HERNANDEZ (1996): Prevention of toxic effects of mycotoxins by means of non-nutritive adsorbent compounds. *J. Food Protect.* 59, 631-641.

49. SAENZ, D. E. and C. RODRIGUEZ (1984): Environmental hormone contamination in Puerto Rico. *New Engl. J. Med.* 310, 1741-1742.
50. SHIER, W. T., A. C. SHIER, W. XIE and C. J. MIROCHA (2001): Structure-activity relationships for human estrogenic activity in zearalenone mycotoxins. *Toxicol* 39, 1435-1438.
51. SZUETS, P., A. MESTERHAZY, G. Y. FALKAY and T. BARTOK (1997): Early telarche symptoms in children and their relation to zearalenone contamination in foodstuffs. *Cereal Res. Commun.* 25, 429-436.
52. ŠEGVIĆ KLARIĆ, M., I. KOSALEC and S. PEPELJNJAK (2007): Determination of zearalenone in maize samples from Croatia by TLC/HPLC method. *Acta Microbiol. Immunol. Hun.* 54, 113.
53. TSAKMAKIDIS, I. A., A. G. LYMBERPOULOS, T. A. KHALIFA, C. M. BOSCO, A. SARATSI and C. ALEXOPOULOS (2008): Evaluation of zearalenone and alpha-zearalenol toxicity on boar sperm DNA integrity. *J. Appl. Toxicol.* 28, 681-688.
54. VISCONTI, A. M. SOLFRIZZO, M. B. DOKO, A. BOENKE and M. PASCALE (1996): Stability of fumonisins at different storage periods and temperatures in gamma irradiated maize. *Food Add. Contamin.* 13, 929-938.
55. VISCONTI, A. and M. PASCALE (1998): Determination of zearalenone in corn by means of immunoaffinity clean-up and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatog.* A 815, 133-140.
56. ZINEDINE, A., J. M. SORIANO, J. C. MOLTO and J. MANES (2007): Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin. *Food. Chem. Toxicol.* 45, 1-18.
57. ZOLLNER, P., J. JODLBAUER, M. KLEINOVA, H. KAHLBACHER, T. KUHN, W. HOCHSTEINER and W. LINDNER (2002): Concentration levels of zearalenone and its metabolites in urine, muscle tissue and liver samples of pigs fed with mycotoxin-concentrated oats. *J. Agri. Food Chem.* 24, 2494-2501.

Oestrogen effects of zearalenon in farm animals and risks for human and animal health

Marko SAMARDŽIJA, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb, Croatia; Ana JELIČIĆ, DVM, Croatia; Mario MITAK, DVM, PhD, Scientific Advisor, Jelka PLEADIN, BSc, PhD, Associate Professor, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Zagreb, Croatia

Zearalenon is a mycotoxin that is a metabolite of mould from the genus *Fusarium*. This mycotoxin is most frequently present in grains and grain products in human consumption and in animal diets, which are very suitable as a culture medium for the development of mycotoxin-producing moulds. The exposure of farm animals to zearalenon leads to urogenital disorders, while stronger acute or chronic poisonings may cause permanent damage to organs of the reproductive system, such as degenerative testicle changes, ovarian atrophy, sterility and abortion. Contamination of food of animal origin (primarily milk and meat) with *Fusarium* mycotoxins is low if farm animals were fed feed containing these mycotoxins, and thus these foodstuffs do not represent a significant threat to human health. However, a significant problem

could be the transfer of zearalenon and its metabolites into foods of animal origin and the synergy effect of several different mycotoxins and numerous metabolites in the organism, which by their chemical structure resemble oestrogen hormones. Their incidence in feed of plant origin frequently consumed by consumers is also a concern. To avoid the negative effects of zearalenon and other *Fusarium* mycotoxins on animal and human health, it is necessary to prevent growth of moulds, and to ensure systematic control of mycotoxins in feed and food. However, if contamination occurs, it is necessary to apply efficient methods of detoxification and decontamination of raw materials and products.

Key words: grains, mycotoxins, zearalenon, contamination, oestrogenic effects, food and animal feed