

Određivanje ohratoksina A u bijelom i crnom vinu

Determination of ochratoxin A in white and red wine

Jasna Bošnjir, Matija Melnjak, Ivana Prskalo, Dario Lasić, Lidija Barušić, Gordana Jurak, Lidija Baričević, Aleksandar Racz, Vanja Vasiljev, Tomislav Rukavina*

Sažetak

Mikotoksini su sekundarni produkti plijesni i vrlo česti kontaminanti hrane. Najčešće su njima kontaminirane žitarice, ali istraživanja ukazuju na to da i druge vrste namirnica mogu biti kontaminirane mikotoksinima. Vino je namirnica koja je najčešće kontaminirana ohratoksinom A (OTA), koji nastaje kao produkt plijesni nastale na grožđu ili kasnije tijekom njegove prerade, a kao i većina drugih mikotoksina, štetno utječe na zdravlje ljudi i životinja, te se njihova prisutnost u hrani redovito provjerava. U ovome radu analizirali smo bijela i crna vina iz podregije koprivničko-đurđevačkog vinogorja na prisutnost ohratoksina A kojeg sintetiziraju plijesni iz skupine *Aspergillus ochraceus* i *Penicillium viridicatum*. Kao članica Europske Unije, Hrvatska je prihvatila Uredbu 1881/2006 o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani koja jednoznačno utvrđuje najviše dopuštene koncentracije ohratoksina A u određenim vrstama hrane, uključujući i vino. Ukupno je analizirano 34 uzorka vina, 19 bijelih vina i 15 uzoraka crnih vina. Vrijednosti OTA kretale su se u rasponu od 0,269 do 1,696 µg/L za bijelo vino i od 0,254 do 0,565 µg/L za crno vino. Nakon izolacije, kvantifikacija ohratoksina A iz vina provedena je imunoenzimskom tehnikom ELISA. Sve dobivene vrijednosti ohratoksina A u analiziranim uzorcima vina niže su od najveće dozvoljene količine koja iznosi 2 µg/L, te su ocijenjena sukladnim i prihvatljivim za konzumaciju. Obzirom na dobivene rezultate može se zaključiti da je evidentna prisutnost ohratoksina A u vinima, te je neophodno kontinuirao pratiti njegove vrijednosti u vinima na tržištu, a sve u svrhu zaštite zdravlja potrošača.

Ključne riječi: mikotoksini, plijesni, ohratoksin A, bijelo vino, crno vino, ELISA.

Summary

Mycotoxins are by-products of molds and very common food contaminants. Cereals are most often contaminated, but research indicates that other types of foods can also be contaminated with mycotoxins. Wine is a food that is most often contaminated with ochratoxin A (OTA), which is formed as a product of molds occurring on grapes or later during its processing. Ochratoxin A, like most other mycotoxins, are food contaminants that adversely affect human and animal health, and their presence in food is regularly checked. In this paper, we analyzed white and red wines from the Koprivnica-Đurđevac vineyards sub-region for the presence of ochratoxin A, which is synthesized by molds from the group *Aspergillus ochraceus* and *Penicillium viridicatum*. As a member of the European Union, Croatia has adopted Regulation 1881/2006 on the establishment of the maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, which unambiguously sets maximum levels for ochratoxin A in certain foodstuffs, including wine. A total of 34 wine samples, 19 white wines and 15 red wine samples were analyzed. OTA values ranged from 0.269 to 1.696 µg / L for white wine and from 0.254 to 0.565 µg / L for red wine. After isolation, the quantification of ochratoxin A from wine was performed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). All values of ochratoxin A obtained in the analyzed wine samples are lower than the maximum permitted amount of 2 µg / L, and are assessed as compliant and acceptable for consumption. Considering the obtained results, it can be concluded that the presence of ochratoxin A in wines is evident, and it is necessary to continuously monitor its values in wines on the market, all for the purpose of consumer health protection.

* **Nastavni zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, Zagreb** (izv. prof. dr. sc. Jasna Bošnjir, dipl. ing.; Ivana Prskalo, dipl. ing.; dr. sc. Dario Lasić; dr. sc. Lidija Barušić; dr. sc. Gordana Jurak; Lidija Baričević, dipl. ing.); **Zdravstveno veleučilište u Zagrebu, Zagreb** (Matija Melnjak, dipl. ing.; doc.dr.sc. Aleksandar Racz, dr. med.); **Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet, Rijeka** (izv. prof. dr. sc. Vanja Vasiljev, dipl. sanit. ing., prof. dr. sc. Tomislav Rukavina, dr. med.)

Adresa za dopisivanje / *Correspondence address:* doc. dr. sc. Aleksandar Racz, dr. med., Zdravstveno veleučilište u Zagrebu, Mlinarska cesta 38, 10000 Zagreb; Tel. 385-91-233-4565. E-mail: aracz@zvu.hr

Primljeno/Received 2020-06-14; Ispravljeno/Revised 2020-07-21; Prihvaćeno/Accepted 2020-07-22

Key words: mycotoxins, molds, ochratoxin A, white wine, red wine, ELISA.

Med Jad 2020;50(4):277-283

Uvod

Mikotoksini su toksični kemijski produkti koji nastaju kao sekundarni metaboliti nekih vrsta plijesni različite kemijske strukture i različitog biološkog učinka, u pravilu bez boje i okusa. Stabilni su i najčešće otporni na povišenu temperaturu.^{1,2} Istraživanja su pokazala postojanje najmanje oko 400 različitih mikotoksina, od kojih su najznačajniji: aflatoksini (AFB1, AFM1), ohratoksini (OTA), zearalenon (ZEA), fumonizini (FB1, FB2), trihoteceni (T-2 toksin) i patulin (PAT).³

Pojavnost mikotoksina ovisi o vrsti plijesni, klimatskim i okolišnim uvjetima, te fizikalno-kemijskim čimbenicima (temperaturi: -5°C do 60°C, sadržaju vode u hrani: 13% i više, koncentraciji plinova u atmosferi, sastavu hrane i dr.).² Mikotoksini kao metaboliti plijesni pojavljuju se u različitim vrstama hrane biljnoga i životinjskog podrijetla, namijenjenoj ljudskoj prehrani, ali i u hrani namijenjenoj prehrani životinja. Pojavljuju se u polju prije ili nakon žetve, tijekom prerade, skladištenja ili hranjenja, te nepovoljno utječu na kvalitetu prehrane. Pojava mikotoksina u hrani predstavlja veliki poljoprivredni problem u razvijenim zemljama, a osobito u zemljama u razvoju. Pojavnost mikotoksina u hrani utječe na sveukupni izvoz hrane, na smanjivanje uzgoja stoke, na količinu usjeva za proizvodnju, a može utjecati i na zdravlje ljudi i životinja. Pouzdani izračuni pokazuju da je otprilike 25% do 50% od ukupnih proizvoda proizvedenih na globalnoj razini, a posebice osnovnih prehrambenih proizvoda, na neki način zaraženo mikotoksinima. Mikotoksini mogu ući u ljudske i životinjske prehrambene lance putem izravne ili neizravne kontaminacije. Izravna kontaminacija hrane i hrane za životinje javlja se kada je za unos odgovorna hrana ili neki njezin sastojak na kojoj ili na kojem je rasla plijesan i proizvela mikotoksine, neovisno da li je plijesan i dalje prisutna, dok se neizravna kontaminacija javlja kada se konzumira hrana životinjskoga porijekla koja potječe od životinje koja se hranila kontaminiranim krmivima, te su mikotoksini neizmijenjeni, ili u nekoj drugoj formi, prisutni u tim proizvodima.

U većini hrane za ljude i životinje rast i razvoj toksigenih plijesni može se dogoditi tijekom njihove proizvodnje, prerade, transporta i skladištenja. Unos mikotoksina kod ljudi događa se uglavnom kod prehrane kontaminiranih biljnih proizvoda, kao i kod proizvoda dobivenih iz namirnica poput mlijeka, sira, mesa i sličnih životinjskih proizvoda.³ U prilog tome govori i istraživanje Leblanc i sur. (2005.) provedeno

u Francuskoj, koje ukazuju na problematiku povećane izloženosti pojedinih skupina ljudi, kao što su djeca i osobe koje preferiraju vegetarijansku prehranu baziranu na žitaricama i proizvodima od žitarica.⁴

Ohratoksini su skupina mikotoksina koji nastaju uglavnom tijekom skladištenja zrna, a produciraju ih plijesni iz roda *Penicillium* i *Aspergillus*, rasprostranjenih širom svijeta. Najtoksičniji i najčešći mikotoksin je ohratoksin A sintetiziran iz plijesni *Aspergillus ochraceus* i *Penicillium viridicatum*.^{5,6} Ohratoksin A otkriven je kao metabolit *Aspergillus ochraceus*, a pronađen je u zobi, ječmu, pšenici, zrnu kave i drugim proizvodima za ljudsku i životinjsku potrošnju. Također može biti prisutan u vinima, ako su plodovi loze zaraženi s plijesni *Aspergillus carbonarium*.⁴ Na prisutnost navedene plijesni ukazuju španjolski autori čije je istraživanje usmjereno na prisutnost ohratoksina A u sušenom voću, uključujući i sušene plodove vinove loze, kao glavnom izvoru ohratoksina A.⁷ U svim pokusima na životinjama ohratoksin A pokazao se kao nefrotoksičan, imunosupresiv, kancerogen i teratogen.⁵ Međunarodna znanstvena agencija za rak klasificirala je ohratoksin A kao moguće kancerogen (kategorija 2B).⁴ Istraživanja na životinjama ukazuju na to da je ohratoksin A uzročnik mnogih ohratoksikoza ptica i sisavaca, a najpoznatija od njih je nefropatija svinja otkrivena prije dvadesetak godina. Pronađen je u mesu, mlijeku i mliječnim prerađevinama, žitaricama, kavi i drugim namirnicama, a u posljednje vrijeme porastao je interes upravo za istraživanje ohratoksina A u vinu.⁸ Ohratoksin A je čest kontaminant vina, te se smatra da kontaminacija vina ovim mikotoksinom značajno doprinosi izloženosti ljudi ohratoksinu A. U pilot studiji o grožđu utvrđeno je da su grožđa u Hrvatskoj kontaminirana ohratoksinom A, a njezini rezultati pokazali su da komercijalna vina imaju visoku učestalost kontaminacije ohratoksinom A. Koncentracija ohratoksina A u svim crvenim vinima bila je iznad granice kvantifikacije (10 ng/L), dok u tri bijela vina (od ukupno sedam) nije utvrđena prisutnost ohratoksina A. Navedena bijela vina su s područja sjeverne Hrvatske, dok su sva ostala vina proizvedena na jugu Hrvatske i u svom sastavu sadržavala su ohratoksin A. Najveće količine ohratoksina A u analiziranim vina koja su bila obuhvaćena istraživanjem, niže su nego u drugim studijama u Europi, što čini hrvatska vina prikladnijim za potrošače.⁸ Najveće dozvoljene količine mikotoksina, uključujući i ohratoksin A, regulirane su, kako na području Europske Unije, tako i na području Republike Hrvatske, zakonskim propisima i uredbama.⁹⁻¹⁶

Ohratoksin A u vinu prvi je puta identificiran 1995. godine, kada je analizirano ukupno 10 crnih i dva bijela vina,¹⁷ a godinu dana kasnije istraživanje je provedeno na 133 uzorka vina. Provedenim analizama utvrđeno je da više količine ohratoksina A sadrže crna vina, dok su količine u bijelom vinu bile niže. Istraživanja ohratoksina A u komercijalnim vinima proveo je Visconti i suradnici, koji su analizirali vina iz obiteljskih gospodarstava. Ukupno je analizirano 56 uzoraka vina (38 uzoraka crnih vina, 9 uzorka bijelih vina, 8 uzoraka rose i jedan uzorak desertnoga vina), a dobiveni rezultati ukazuju na to da je unos ohratoksina A u organizam veći konzumiranjem crnih i rose vina,

nego putem bijelih vina, jer su količine utvrđenog ohratoksina A u crnim vinima i rose vinima bile više u odnosu na bijela vina.¹⁸ Da količine ohratoksina A u vinima ovise o geografskom podrijetlu grožđa, potvrdilo je istraživanje u kojem je zaključeno da su vina iz južnih regija više kontaminirana ohratoksinom A, nego ona iz sjevernih regija.^{19,20} U istraživanjima koja su provedena u Republici Hrvatskoj također su dobiveni slični rezultati koji potvrđuju da crna vina sadrže više količine ohratoksina A u odnosu na bijela vina,²¹ a također je utvrđeno da mošt od crnoga vina sadrži veće količine ohratoksina A, od vina koje je dobiveno iz analiziranog mošta.²²

Tablica 1. Najveće dopuštene količine ohratoksina A prema Uredbi EEZ 1881/2006.¹⁰

Table 1 Highest amount of allowed ochratoxin A according to EEC Regulation 1881/2006¹⁰

Hrana <i>Food</i>	Najveće dopuštene količine (µg/kg) <i>Maximal Allowed Quantities</i>
Vino (uključujući pjenušavo vino, osim likerskih vina i vina s volumnim udjelom alkohola, ne manjim od 15% vol.) i voćno vino <i>Wine (including sparkling wine, other than liqueur wines and wines with an alcoholic strength by volume of not less than 15%) and fruit wine</i>	2
Aromatizirana vina, aromatizirana pića na bazi vina i aromatizirani kokteli na bazi vina <i>Flavored wine, aromatized wine-based drinks and aromatized wine-based cocktails</i>	2
Sok od grožđa, rekonstituirani koncentrirani sok od grožđa, nektar od grožđa, mošt i rekonstituirani koncentrirani mošt od grožđa za izravnu prehranu ljudi <i>Grape juice, reconstituted concentrated grape juice, grape nectar, must and reconstituted concentrated grape must for direct human consumption</i>	2
Likerska vina <i>Liqueur wines</i>	-

Cilj istraživanja

Cilj ovoga istraživanja bio je imunoenzimatskom tehnikom (ELISA) i uporabom visoko-specifičnih imuno-afinitetnih kolonika analizirati odabrane uzorke bijelih i crnih vina s područja Republike Hrvatske iz koprivničko – đurđevačkog vinogorja na prisutnost ohratoksina A, te dobivene vrijednosti usporediti s najvećim dozvoljenim količina propisanim zakonskim propisima, utvrditi jesu li analizirana vina sukladna propisima, odnosno, jesu li dobivene vrijednosti ohratoksina A unutar najvećih dozvoljenih količina, te jesu li prikladna za konzumaciju.

Materijali i metode

Materijali

Istraživanjem je obuhvaćeno i analizirano 34 uzorka različitih sorti vina od 17 proizvođača s područja

koprivničko-đurđevačkog vinogorja. Svi uzorci bili su prikupljeni isti dan na izložbi vina, te obilaskom vinara. Uzorkovanje uzoraka vina provedeno je u skladu s Uredbom EEZ 401/2006. prema kojoj skupni uzorak vina namijenjenog za analizu ohratoksina A mora iznositi najmanje 1 litru.¹⁴ Prilikom uzorkovanja poduzete su sve mjere opreza, kako ne bi došlo do naknadne kontaminacije vina koja bi utjecala na koncentraciju mikotoksina u uzorku. Svaki od uzoraka uzorkovan je u čisti, inertni spremnik koji osigurava odgovarajuću zaštitu od kontaminacije i oštećenja u transportu. Svaki uzorak bio je propisno zatvoren i uredno označen, te je bio sastavljen zapisnik o danu, mjestu uzorkovanja i drugim podacima koji mogu biti od koristi tijekom analize i za naknadnu obradu podataka. Nakon uzorkovanja, do početka analize, uzorci su bili pohranjeni na tamno i hladno mjesto. Uzorci su analizirani na Odjelu za zdravstvenu ispravnost i kvalitetu hrane i predmeta opće uporabe Nastavnog zavod za javno zdravstvo „Dr. Andrija Štampar“, Mirogojska 16, 10000 Zagreb.

Metode

U radu je za identifikaciju i kvantifikaciju ohratoksina A korištena imunoenzimatska metoda (ELISA), budući da su ranija istraživanja utvrdila da je metoda prihvatljiva za uzorke u kojima se očekuje da će vrijednosti ohratoksina A biti veće od razine ng/L.²³ ELISA tehnika je jednostavna i brza tehnika koja se temelji na brzom i jednostavnoj pripremi uzoraka, a

pogodna je za određivanje većeg broja uzoraka istovremeno. Princip metode je da se uzorci nakon homogenizacije, propuštaju preko specifičnih imunofinitetnih kolonija, a tako dobiveni uzorak dalje se priprema prema uputi proizvođača ELISA - Kita. Kvantifikacija ohratoksina A provedena je na specijalnom ELISA čitaču, uz izrađenu baždarnu krivulju.

Rezultati

Tablica 2. Količine ohratoksina A u bijelim vinima, izražene u µg/L

Table 2 *Quantity of ochratoxin in white wine expressed in µg/L*

Bijelo vino / <i>White wine</i>			
<i>Redni broj</i> <i>Number</i>	<i>Broj uzorka</i> <i>Number of samples</i>	<i>Sorta vina</i> <i>Sort of Wine</i>	<i>Količina OTA (µg/L)</i> <i>Quantity OTA</i>
1	9	Pinot sivi	0,275
2	10	Traminac	< 0,25
3	11	Chardonnay	0,474
4	12	Traminac	0,400
5	20	Muškat žuti	0,464
6	21	Sauvignon	0,434
7	22	Muškat žuti	< 0,25
8	23	Graševina	0,492
9	24	Pinot sivi	0,436
10	25	Pinot sivi	0,398
11	26	Rajnski rizling	< 0,25
12	27	Pinot bijeli	0,496
13	28	Pinot sivi	0,374
14	29	Cuve	0,342
15	30	Cuve	< 0,25
16	31	Pinot sivi	0,269
17	32	Zeleni silvanac	< 0,25
18	33	Cuve	< 0,25
19	34	Chardonnay	< 0,25
Minimalna vrijednost OTA (µg/L) <i>Minimal quantity</i>			0,269
Maksimalna vrijednost <i>Maximal quantity</i> OTA (µg/L)			0,496

Tablica 2. prikazuje količinu ohratoksina A u 19 različitih uzoraka bijeloga vina. Od 19 uzoraka bijeloga vina, 7 uzorka nije sadržavalo ohratoksin A u količinama većim od granice kvantifikacije metode, koja je iznosila $LOQ < 0,25 \mu\text{g/L}$, dok je kod 12 uzoraka bila zabilježena količina ohratoksina A u rasponu od 0,269 do 0,496 $\mu\text{g/L}$.

Tablica 3. prikazuje količinu ohratoksina A u 15 različitih uzoraka crnoga vina. U pet uzoraka vina nije utvrđena količina ohratoksina A veća od granice kvantifikacije ($LOQ < 0,25 \mu\text{g/L}$). U deset analiziranih uzoraka utvrđena je prisutnost ohratoksina A, a količine su se kretale u rasponu od 0,254 $\mu\text{g/L}$ do 0,565 $\mu\text{g/L}$.

Tablica 3. Količine ohratoksina A u crnim vinima izražene u $\mu\text{g/L}$

Table 3 Quantity of ochratoxin A in red wine expressed in $\mu\text{g/L}$

Crno vino / Red Wine			
Redni broj <i>Number</i>	Broj uzorka <i>Number of Samples</i>	Sorta vina <i>Sort of Wine</i>	Količina OTA u $\mu\text{g/L}$ <i>Quantity</i>
1	1	Syrah	< 0,25
2	2	Frankovka	< 0,25
3	3	Pinot crni	0,254
4	4	Zweigelt	< 0,25
5	5	Pinot crni	< 0,25
6	6	Frankovka	< 0,25
7	7	Cabernet sauvignon	0,378
8	8	Frankovka	0,305
9	13	Cabernet sauvignon	0,379
10	14	Cuve 2017	0,275
11	15	Cuve 2018	0,507
12	16	Frankovka	0,454
13	17	Cuve	0,430
14	18	Cuve	0,256
15	19	Cuve	0,565
Minimalna vrijednost OTA ($\mu\text{g/L}$) <i>Minimal Quantity</i>			0,254
Maksimalna vrijednost OTA ($\mu\text{g/L}$) <i>Maximal Quantity</i>			0,565

Tablica 4. Postotni prikaz pozitivnih i negativnih analiziranih uzoraka vina na prisutnost ohratoksina A

Table 4 Percentage in positive and negative analyzed samples on ochratoxin A presence

Uzorak <i>Sample</i>	Ukupno analiziranih uzoraka <i>Total analyzed samples</i>	Pozitivno <i>Positive</i>	Negativno <i>Negative</i>	% pozitivnih uzoraka <i>% positive samples</i>
Bijelo vino <i>White wine</i>	19	12	7	63%
Crno vino <i>Red Wine</i>	15	10	5	67%
Ukupno bijelo i crno vino <i>Total white and red wine</i>	34	22	12	65%

Tablicom 4 prikazan je broj uzoraka vina u kojima je utvrđena prisutnost ohratoksina A, te uzoraka u kojima prisutnost ohratoksina A nije utvrđena u svakoj od analiziranih kategorija vina. U kategoriji bijelih vina utvrđeno je da 63% analiziranih uzoraka sadrži ohratoksin A u količini većoj od LOQ, dok u kategoriji crnih vina broj pozitivnih uzoraka iznosi 63%.

Rasprava

U ovom istraživanju analizirani su uzorci vina s područja koprivničko-đurđevačkog vinogorja prikupljeni iz privatnih vinarija, a proizvedenim tijekom 2018. godine. Iako je prisutnost ohratoksina A utvrđena u većini analiziranih uzoraka, svi uzorci sukladni su zakonskim propisima, jer su utvrđene količine ohratoksina A niže od najveće dozvoljene količine koja iznosi 2 µg/kg.¹³ Ukupno je prikupljeno i analizirano 34 uzorka vina (19 uzoraka bijelih i 15 uzoraka crnih vina). Istraživanjem je utvrđeno da je 12 uzoraka bijelih vina (63%) sadržavalo ohratoksin A, a vrijednosti su se kretale od 0,269 µg/L do 0,496 µg/L. Za razliku od bijelih vina, prisutnost ohratoksina A utvrđena je u 10 uzoraka crnih vina, što iznosi 67%. Vrijednosti ohratoksina A u crnim vinima kretale su se od 0,254 µg/L – 0,565 µg/L. Dobiveni rezultati potvrđuju činjenicu da crna vina u većem postotku sadrže ohratoksin A, u odnosu na bijela vina, a jednako tako količine analiziranog mikotoksina su više u crnim, nego u bijelim vinima. Uspoređujući dobivene rezultate prethodno spomenutih istraživanja, poput istraživanja Lawrence de Jesus i sur. (2018.) i rezultate ovoga istraživanja, može se zaključiti da se vrijednosti ohratoksina A u vinima iz koprivničko-đurđevačkog vinogorja kreću u razmjerima sličnih istraživanja.²⁴ Varijacije u rezultatima među vinima iz različitih zemalja mogu se tumačiti podnebljem i regijama u kojima se uzgaja vinova loza, budući da su neka od istraživanja utvrdila da je geografsko podrijetlo povezano s prisutnošću ohratoksina A.^{20,21} Prema rezultatima istraživanja koje je objavila Europska komisija, a provedeno je na 1470 uzoraka vina, njih 872 bila su pozitivna na prisutnost ohratoksina A (59%), te je potvrđeno da vina iz južnih dijelova Europe sadrže ohratoksin A u većim količinama u odnosu na ona iz sjevernijih dijelova, a srednja vrijednost iznosila je 0,36 µg/kg.²⁵ Rezultati dobiveni ovim istraživanjem ukazuju na to da je 65% vina iz koprivničko – đurđevačkog vinogorja bilo kontaminirano ohratoksinom A, što ukazuje na to da se dobiveni rezultati mogu usporediti s onima na razini Europske unije, objavljenima primjerice u istraživanju Gil-Serna i sur. (2018.).²⁶

Usporedimo li podatke Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA) o prihvatljivom tjednom unosu, koji za ohratoksin A iznosi 120 ng/kg tjelesne težine, odnosno 0,12 µg/kg tjelesne težine,²⁷ s vrijednostima ohratoksina A dobivenih u ovom istraživanju, razvidno je da konzumacija vina doprinosi značajnom unosu ovoga mikotoksina u organizam kod osoba koje vino svakodnevno konzumiraju, na što ukazuju i neka ranija istraživanja.^{18-20,27} Svakako treba istaknuti i činjenicu da je unos ohratoksina A povećan i kod osoba čija je prehrana bazirana na žitaricama i proizvodima žitarica, a koji predstavljaju najznačajniji unos mikotoksina u prehrani ljudi, osobito kod specifičnih skupina kao što su djeca, vegani i makrobiotičari, kod kojih unos mikotoksina, obzirom na način prehrane, može prelaziti prihvatljiv tjedni unos.

Zaključak

Na osnovu provedenoga istraživanja na uzorcima vina i dobivenih rezultata, možemo zaključiti da su veće količine ohratoksina A utvrđene u crnim vinima u odnosu na bijela vina, te da je postotak pozitivnih uzoraka na prisutnost ohratoksina A, u većem broju utvrđen u crnim vinima. Svi analizirani uzorci koji su sadržavali ohratoksin A u količini većoj od LOQ, prema zakonskim propisima, ocijenjeni su prihvatljivim za tržište. Dobiveni rezultati govore nam o nedovoljnoj spoznaji o opasnosti od mikotoksina, a posebice ohratoksina A u vinu. Stoga je neophodno provoditi kontinuiranu edukaciju vinara usmjerenu na mjere koje će doprinijeti smanjenju ohratoksina A u vinima, a što će ujedno povećati sigurnost konzumiranja ove vrste proizvoda.

Zahvala

Rad je izrađen kao dio projekata Centra za sigurnost i kvalitetu hrane (K.K. 01.1.1.02.0004), financiranom od Europskog regionalnog fonda za razvoj.

Literatura

1. Turner NW, Subrahmanyam S, Piletsky SA. Analytical methods for determination of mycotoxins: a review. *Anal Chim Acta* 2009;632:168-180.
2. Hrvatska agencija za hranu. Dostupno na: <http://www.hah.hr/sto-su-mikotoksini/>
3. da Rocha MEB, Freire FDCO, Maia FEF, Guedes MIF, Rondina D. Mycotoxins and their effects on human and animal health. *Food Control* 2014;36:159-165.
4. Leblanc JC, Tard A, Volatier JL, Verger P. Estimated dietary exposure to principal food mycotoxins from

- the first French Total Diet Study. Food Addit Contam 2005;22:652-672.
5. Peraica M, Domijan AM. Contamination of food with mycotoxins and human health. Arh Hig Rada Toksikol 2001;52:23-35.
 6. Pavlinić I, Puntarić D, Bošnjir J, i sur. Istraživanje okratoksina A u ječmu – doprinos mikotoksinskoj hipotezi nastanka endemske nefropatije. Med Jad 2010;40:59-65.
 7. Abarca ML, Accensi F, Bragulat MR, Castellá G, Cabañes FJ. *Aspergillus carbonarius* as the main source of ochratoxin A contamination in dried vine fruits from the Spanish market. J Food Prot 2003; 66:504-6.
 8. Peraica M, Domijan AM, Flaš D, Ivić D, Cvjetković B. Izloženost hrvatskog stanovništva okratoksinu A. Krmiva 2008;50:27-33.
 9. Uredba vijeća (EEZ) br. 315/93 od 8. veljače 1993. o utvrđivanju postupaka Zajednice za kontrolu kontaminanata u hrani.
 10. Zakon o kontaminantima. Narodne novine 39/2013, 114/2018.
 11. Zakon o hrani pročišćeni tekst zakona. Narodne novine 81/2013, 14/2014, 30/2015, 115/2018.
 12. European Food Safety Authority. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to ochratoxin A in food. EFSA J 2006;365:1-56.
 13. Uredba komisije (EZ) br. 1881/2006 od 19. prosinca 2006. o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani.
 14. Uredba komisije (EZ) br. 401/2006 od 23. veljače 2006. o utvrđivanju metoda uzorkovanja i analize za službenu kontrolu razina mikotoksina u hrani i Uredba komisije (EU) br. 519/2014 od 16. svibnja 2014. o izmjeni Uredbe (EZ) br 401/2006 u pogledu metoda uzorkovanja velikih serija, začina i dodataka prehrani, kriterija učinkovitosti za toksine T-2, HT-2 i citrinin te orijentacijskih analiza.
 15. Zakon o vinu. Narodne novine 96/2003, 32/2019.
 16. Pravilnik o kategorijama proizvoda od grožđa i vina, enološkim postupcima i ograničenjima. Narodne novine 114/2010, 30/2015.
 17. Zimmerli B, Dick R. Determination of ochratoxin A at the ppt level in human blood, serum, milk and some foodstuffs by high-performance liquid chromatography with enhanced fluorescence detection and immunoaffinity column cleanup: methodology and Swiss data. J Chromatogr 1995;666:85-99.
 18. Visconti A, Pascale M, Centonze G. Determination of ochratoxin A in wine by means of immunoaffinity column clean-up and high-performance liquid chromatography. J Chromatogr A 1999;846:89-101.
 19. Ottener H, Majerus P. Occurrence of ochratoxin A (OTA) in wines: influence of the type of wine and its geographical origin. Food Addit Contam 2000;9:793-798.
 20. Pascale M, Visconti A. Ochratoxin A in wine and beer: analytical method and natural occurrence. Congress Proceedings, 11th Congress of the Mediterranean Phytopathology Union and 3rd Congress of the Sociedade Portuguesa de Fitopatologia, Evora, Portugal, 17-20 September. 2001;426-428.
 21. Domijan AM, Peraica M. Ochratoxin A in wine. Arh Hig Rada Toksikol 2005;56:17-20.
 22. Durguti V, Georgieva A, Angelov A, Bajrami Z. Quantitative determination of ochratoxin A in wine after the clarification and filtration. Croat J Food Sci Technol 2014;6:79-83.
 23. Flaš D, Domijan AM, Ivić D, Cvjetković B, Peraica M. ELISA and HPLC analysis of ochratoxin A in red wines of Croatia. Food Control 2009;20:590-592.
 24. De Jesus CL, Bartley A, Welch AZ, Berry JP. High incidence and levels of ochratoxin A in wines sourced from the United States. Toxins 2018;10:1.
 25. Jorgensen K. Occurrence of ochratoxin A in commodities and processed food – a review of EU occurrence data. J Food Addit Contam 2005;22 Suppl 1:26-30.
 26. Gil-Serna J, Vázquez C, González-Jaén MT, Patiño B. Wine contamination with ochratoxins: A Review. Beverages 2018;4:6.
 27. Europska komisija. Task 3.2.7 "Assessment to dietary intake of ochratoxin a by the population of EU member states". Italy: Directorate-General Health and Consumer Protection 2002;6:116.

