

## PROFESSIONAL PAPER

# Pojavnost fumonizina i T-2 toksina u neprocesiranim žitaricama malog i velikog zrna u Hrvatskoj

## *Incidence of fumonisins and T-2 toxins in unprocessed cereals of small and large grains in Croatia*

Jelka Pleadin<sup>1\*</sup>, Nina Kudumija<sup>1</sup>, Jadranka Frece<sup>2</sup>, Manuela Zadravec<sup>3</sup>, Mario Mitak<sup>3</sup>, Ksenija Markov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dr. sc. Jelka Pleadin, dipl. ing. biotehnol., znanstveni savjetnik

Laboratorij za analitičku kemiju, Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta 143, 10 000 Zagreb, Hrvatska

<sup>1</sup>Dr. sc. Nina Kudumija, dipl. ing. preh. tehnol., stručni suradnik

Laboratorij za analitičku kemiju, Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta 143, 10 000 Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Dr. sc. Jadranka Frece, dipl. ing. biotehnol., redoviti profesor

Laboratorij za opću mikrobiologiju i mikrobiologiju namirnica, Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Pierottijeva 6, 10 000 Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Dr. sc. Manuela Zadravec, dr. vet. med., znanstveni suradnik

Laboratorij za mikrobiologiju hrane za životinje, Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta 143, 10 000 Zagreb, Hrvatska

<sup>3</sup>Dr. sc. Mario Mitak, dr. vet. med., znanstveni savjetnik

Laboratorij za mikrobiologiju hrane za životinje, Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta 143, 10 000 Zagreb, Hrvatska

<sup>2</sup>Dr. sc. Ksenija Markov, dipl. ing. biotehnol., izvanredni profesor

Laboratorij za opću mikrobiologiju i mikrobiologiju namirnica, Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Pierottijeva 6, 10 000 Zagreb, Hrvatska

\*Dopisni autor: pleadin@veinst.hr

### Sažetak

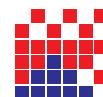
Cilj rada bio je istražiti pojavnost fuzarijskih mikotoksina fumonizina i T-2 toksina u neprocesiranim žitaricama malog i velikog zrna, uzorkovanih u različitim regijama Republike Hrvatske. Tijekom razdoblja 2014. - 2015. godine uzorkovano je ukupno 174 uzoraka žitarica iz središnje, istočne, zapadne i južne regije te analizirano na količinu fumonizina i T-2 toksina primjenom validiranih imunoenzimskih ELISA metoda. Najveća količina fumonizina određena je u kukuruzu (8900 µg/kg), a T-2 toksina u zobi (75,2 µg/kg). Tijekom dvogodišnjeg razdoblja fumonizin je detektiran u 84%, a za T-2 toksin u 40% uzoraka žitarica. Količine fumonizina veće od najvećih dopuštenih količina (NDK) za žitarice koje se koriste u prehrani ljudi, propisane Uredbom Komisije 1881/2006, određene su u ukupno pet uzoraka kukuruza, dok vrijednosti veće od najvećih preporučenih količina (NPK) za krmiva koja se koriste u hranidbi životinja definirane Preporukama 2006/576/EC, nisu određene. Uspredbom sa indikativnih razinama T-2 toksina u žitaricama i proizvodima na bazi žitarica kao hrani i hrani za životinje, pri kojima bi sukladno preporukama Komisije 2013/165/EU bilo potrebno poduzeti određene daljnje mjeru, u niti jednom analiziranom uzorku nije određena količina T-2 toksina koja bi upućivala na mogući rizik za zdravlje u ljudi i životinja. Povećane količine fumonizina i T-2 toksina određene u pojedinim uzorcima upućuju na nužnost sustavne kontrole ovih mikotoksina u hrani i hrani za životinje.

**Ključne riječi:** fumonizini, T-2 toksin, neprocesirane žitarice, Republika Hrvatska

### Summary

The aim of this study was to examine the incidence of Fusarium mycotoxin fumonisins and T-2 toxin in unprocessed cereals of small and large grains, sampled in various Croatian regions. During the period 2014-2015 a total of 174 samples of cereals were sampled from the central, eastern, western and southern region and analyzed on the content of fumonisins and T-2 toxin by using validated immunoenzymatic method ELISA. The highest amount of fumonisins was determined in maize (8900 µg/kg) and T-2 toxin in oats (75.2 µg/kg). During the two-year period fumonisins were detected in 84% and the T-2 toxin in 40% of cereals. Content of fumonisins exceeding the maximal permitted levels (MPL) for cereals that are used in human nutrition, prescribed by Commission Regulation 1881/2006, were determined in a total of five maize samples, whereas values higher than the maximal recommended level (MRL) for the ingredients that are used in animal nutrition defined by Recommendation 2006/576/EC, were not determined. Comparing with indicative levels of T-2 toxin in cereals and cereal-based products as food and feed, in accordance with Commission Recommendation 2013/165/EU at which is necessary to take certain further measures, none of the analyzed sample shows to the content of T-2 toxin that indicate to the potential risk for human and animal health. Increased content of fumonisins and T-2 toxin in some samples indicate to a need for systematic control of these mycotoxins in food and feed.

**Keywords:** fumonisins, T-2 toxin, unprocessed cereals, Republic of Croatia



## Uvod

Plijesni roda *Fusarium* pojavljuju se kao najčeščaliji kontaminanti žitarica širom svijeta, najviše u umjerenim klimatskim područjima, te u optimalnim uvjetima produciraju fuzarijske mikotoksine kao sekundarne toksične metabolite. Poznato je da na produciju mikotoksina utječu brojni čimbenici, kao što su klimatski uvjeti, mehaničko oštećenje žitarica, prisutnost kukaca, način uzgoja žitarica, brzina i način sušenja, uvjeti skladištenja, kemijska obrada i dr. (Mateo i sur., 2002; Kabak i sur., 2006). Značajni predstavnici fuzarijskih mikotoksina iz skupine trihotecena, koji su ujedno vrlo rasprostranjeni kontaminanti različitih žitarica, predstavljaju fumonizini i T-2 toksin.

Fumonizini su sekundarni metaboliti koje sintetiziraju plijesni roda *Fusarium verticillioides*, *Fusarium proliferatum* i *Fusarium moniliforme*. Po kemijskoj strukturi predstavljaju alifatske ugljikovodike s terminalnom amino skupinom i dva lanca trikarboksilnih kiselina. Ovisno o broju i smještaju hidroksilnih skupina razlikuju se fumonizin  $B_1$ ,  $B_2$  i  $B_3$ , a do današnjih dana izolirano je više od petnaestak fumonizina te utvrđeno da je od svih izoliranih najčeščalija pojavnost fumonizina  $B_1$  (Domijan, 2013). Fumozin  $B_1$  je nefrotoksičan i hepatotoksičan mikotoksin, klasificiran od strane Međunarodne organizacije za istraživanje raka (International Agency for Research on Cancer, IARC) kao mogući karcinogen (grupa 2B) (IARC, 1993). Predstavlja najtoksičniji spoj iz skupine fumonizina, stabilan je pri povišenim temperaturama tijekom procesiranja hrane i nije fotosenzibilan. Najčešći izvor fumonizina u hrani predstavljaju kukuruz i proizvodi na bazi kukuruza, zatim riža i ječam, a često ga se može naći i u kombinaciji s drugim mikotoksinima (Binder, 2007). Značajne količine ovog mikotoksina identificirane su i u namirnicama namijenjenim ljudskoj prehrani, a u mlijeku, mesu ili jajima životinja koje su hranidbom uzimale kontaminirano krmivo, fumonizini nisu određeni u količini koja bi bila štetna za ljudsko zdravlje (WHO, 2001).

T-2 toksin je najtoksičniji predstavnik trihotecenskih mikotoksina tipa A. T-2 toksin ima citotoksično i imunosupresivno djelovanje te može uzrokovati akutnu intoksikaciju, ali i kronične bolesti u ljudi i životinja (IARC, 1993; EFSA, 2011). Sekundarni je produkt metabolizma plijesni roda *Fusarium*, često prisutan u žitaricama i hrani za životinje. Istraživanja pokazuju da je *Fusarium langsethiae* najveći producent ovog mikotoksina, a potom *Fusarium poae* i *Fusarium sporotrichioides* (Thrane i sur., 2004; Glenn, 2007) te da ga fuzarijske plijesni produciraju u širokom temperaturnom rasponu od 0-32 °C, uz maksimalnu produktivnost ispod 15 °C. Nehlapljiv je i termostabilan te ga je teško suzbiti u proizvodnji hrane (Creppy, 2002). Podaci pokazuju da različite žitarice, uključujući kukuruz, ječam, zob, pšenicu, rižu i soju, mogu biti kontaminirane sa T-2 toksinom, uz pojavnost HT-2 toksina kao njegovog glavnog metabolita (EC, 2003; EFSA, 2011). Provedena istraživanja također upućuju na moguće sinergističke učinke T-2 toksina s drugim mikotoksinima (SCF, 2002).

Cilj ovog rada bio je istražiti pojavnost ukupnih fumonizina i T-2 toksina u neprocesiranim žitaricama malog i velikog zrna, uzorkovanim iz različitih regija Republike Hrvatske tijekom razdoblja 2014.-2015. godine. Utvrđene količine uspoređene su s najvećim dopuštenim količinama (NDK) pro-

pisanim za ove mikotoksine u žitaricama koje se koriste u ljudskoj prehrani te sa najvećim preporučenim količinama (NPK) za krmiva u hranidbi životinja.

## Materijali i metode

### *Uzorkovanje*

Tijekom 2014. i 2015. godine uzorkovano je ukupno 172 uzorka neprocesiranih žitarica, od čega: velikog zrna - kukuruz ( $n = 75$ ) i malog zrna – ječam ( $n = 30$ ), pšenica ( $n = 41$ ) i zob ( $n = 26$ ). Uzorci su uzeti iz različitih regija Republike Hrvatske i to: središnje regije (Zagrebačka, Bjelovarsko-bilogorska, Krapinsko-zagorska, Varaždinska i Međimurska županija), istočne regije (Brodsko-posavska, Požeško-slavonska i Vukovarsko-srijemska županija), zapadne regije (Primorsko-goranska i Istarska županija) i južne regije (Splitsko-dalmatinska i Dubrovačko-neretvanska).

### *Priprema i pročišćavanje uzoraka*

Uzorci žitarica su uzorkovani sukladno normama ISO 6497:2002 i ISO 6498:1998. Potom su samljeveni u fini prah na analitičkom mlinu (Cylotec 1093, Tecator, Sweden) i pohranjeni na +4 °C do provedbe analiza.

Za određivanje oba mikotoksina u analitički postupak uzeto je po 5 g samljevenog uzorka i dodano 25 mL otopine metanol/destilirana voda (70/30). Ekstrakcija je provedena snažnim mučkanjem *head-over-head* na tresilici tijekom 10 minuta te je dobiveni sadržaj filtriran pomoću filter papira Whatman (Black Ribbon). Dobiveni filtrat je potom razrijeđen sa destiliranim vodom za potrebe određivanja fumonizina ili s puferom za razrjeđivanje kod određivanja T-2 toksina, te je bistra otopina ukapana u jažice mikrotitracijske ploče.

### *ELISA test*

Imunoenzimski ELISA kitovi za određivanje fumonizina (R3401) i T-2 toksina (R3801) nabavljeni su od R-Biopharm (Darmstadt, Njemačka). Svaki kit sastoji se od mikrotitracijske ploče s 96 jažica obloženih antitijelima, standardnih vodenih otopina fumonizina koncentracije 0, 0,025, 0,074, 0,222, 0,666 i 2 µg/mL odnosno T-2 toksina koncentracije 0, 0,1, 0,2, 0,4, 0,8 i 1,6 ng/mL), peroksidaza konjugiranog fumonizina/T-2 toksina, anti-fumonizin/T-2 toksin antitijela, otopine supstrata i kromogena (urea peroksid/tetrametilbenzidin) i stop otopine (1N sulfatna kiselina).

ELISA test je proveden pomoću automatiziranog analizatora ChemWell (Awareness Technology 2910, Inc., USA) potpuno u skladu sa uputama proizvođača ELISA kita te su na kraju oba analitička postupka apsorbance u jažicama izmjerene pri 450 nm. Pri određivanju količine mikotoksina u uzorcima, rezultati očitani iz baždarne krivulje pomnoženi su s pripadajućim faktorom razrjeđenja uzoraka, uvezvi u obzir iskorištenje pojedine analitičke metode.

### *Statistička obrada podataka*

Statistička obrada podataka provedena je pomoću programa Statistica Ver. 6.1. software (StatSoftInc. 1984-2003, USA). Dobivene količine mikotoksina prikazane su kao srednja vrijednost (mean) ± standardna devijacija (SD) (µg/kg). Primjenom ANOVA testa utvrđene količine uspoređene su s

obzirom na regiju i godinu uzorkovanja žitarica. Granica statističke značajnosti iznosila je 5% ( $p < 0,05$ ).

## Rezultati i rasprava

Poznato je da žitarice najbolje uspijevaju u područjima kontinentalne klime, na područjima s dubokim i umjereno vlažnim tlom. U Hrvatskoj je proizvodnja žitarica najznačajnija u istočnom i središnjem dijelu Hrvatske, uz najzastupljeniji kukuruz, potom pšenicu, a ostale žitarice, kao što su zob, raž, tritikal, sirak, proso i heljda, siju se u znatno manjim količinama. Istraživanja provedena ranijih godina pokazuju da klimatske prilike u Hrvatskoj pogoduju rastu pljesni roda *Fusarium* te da je kontaminacija žitarica fuzarijskim mikotoksinsinima u našoj zemlji učestala pojava, pogotovo tijekom kišovitih i toplijih razdoblja (Domijan, 2013; Pleadin i sur., 2012a,b). S obzirom na visoku pojavnost ovih kontaminanata nužan je kontinuirani nadzor žitarica i proizvoda na bazi žitarica koje se mogu koristiti u proizvodnji hrane i hrane za životinje sukladno propisanim zakonodavstvu (Pleadin i sur., 2013).

NDK definirane za žitarice koje se koriste u proizvodnji hrane te NPK za žitarice koje se kao krmiva koriste u proizvodnji krmnih smjesa, prikazane su u tablici 1.

**Tablica 1.** Najveće dopuštene količine (NDK) i najveće preporučene količine (NPK) fumonizina i T-2 toksina u žitaricama

**Table 1.** Maximal permitted levels (MPL) and maximal recommended levels (MRL) of fumonisins and T-2 toxin in cereals

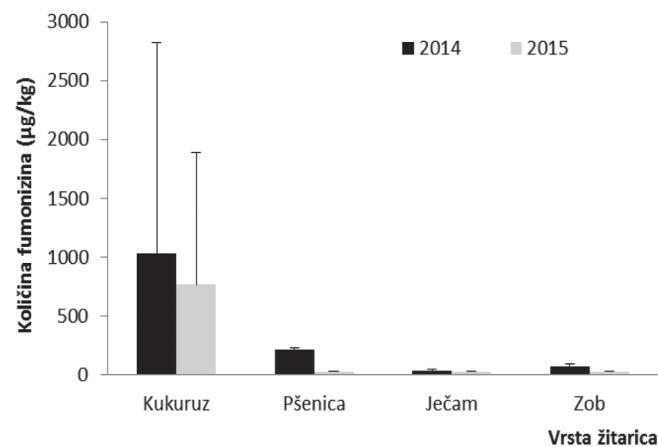
Mikotoksin	Žitarica <sup>a</sup>	NDK (µg/kg)	NPK (µg/kg)
Fumonizini	Kukuruz	2000 <sup>b</sup>	60000 <sup>c</sup>
T-2 toksin	Kukuruz,	200 <sup>d</sup>	500 <sup>d</sup>
	ječam	1000 <sup>d</sup>	2000 <sup>d</sup>
	Zob	100 <sup>d</sup>	500 <sup>d</sup>
	Pšenica		

NDK – najveća dopuštena količina u hrani; NPK – najveća preporučena količina u hrani za životinje;<sup>a</sup> neprerađene žitarice; <sup>b</sup> Uredba komisije (EZ) o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani 1881/2006; <sup>c</sup> Commission Recommendation 2006/576/EC; <sup>d</sup> Commission Recommendation 2013/165/EC

U ovom radu analizirane su količine fumonizina i T-2 toksina tijekom dvogodišnjeg razdoblja (2014 - 2015) u neprocesiranim žitaricama malog i velikog zrna iz različitih regija Hrvatske. Određene količine fumonizina (mean±SD) po vrsti žitarice i godini uzorkovanja prikazane su na slici 1.

**Slika 1.** Količina fumonizina u žitaricama po godini uzorkovanja

**Figure 1.** Content of fumonisins in cereals per year of sampling



Količine fumonizina po godinama uzorkovanja i regijama Hrvatske prikazane su u tablici 2.



**Tablica 2.** Fumonizini u žitaricama iz različitih regija Hrvatske uzorkovanim tijekom razdoblja 2014. - 2015.  
**Table 2.** Fumonisins in cereals from different regions of Croatia sampled during period 2014 - 2015

Godina	Regija	N	% pozitivnih <sup>a</sup>	Mean (µg/kg)	SD (µg/kg)	Min (µg/kg)	Max (µg/kg)
2014.	Središnja	44	88	592	1202	49	6300
	Istočna	37	86	1356	2109	42	8900
	Zapadna	6	83	335	188	202	468
	Južna	5	80	2118	2803	136	4100
2015.	Središnja	40	91	528	560	32	1596
	Istočna	33	87	1029	1515	32	5000
	Zapadna	5	80	710	533	118	1168
	Južna	4	75	236	5,65	232	240

<sup>a</sup> postotak uzoraka u kojima je fumonizin detektiran (> LOD; LOD = 28 µg/kg)

Mean - srednja vrijednost; SD - standardna devijacija; Min - najmanja vrijednost; Max - najveća vrijednost

U istraživanju koje je provela Hrvatska agencija za hranu, fumonizini su utvrđeni u 56% uzoraka kukuruza, dok u sojinoj sačmi ovi mikotoksini nisu detektirani (HAH, 2012). Određene količine fumonizina u svim uzorcima kukuruza bile su ipak značajno manje od NDK propisane Uredbom Komisije Europejske zajednice 1881/2006. Zaključeno je da iako je učestalost kontaminacije kukuruza s fumonizinima u Hrvatskoj velika, a nađene količine relativno niske u odnosu na NDK za pojedinu namirnicu, prisustvo isključivo fumonizina ne bi trebalo predstavljati javnozdravstveni problem. Međutim, znanstvenici su zabrinuti zbog moguće prisutnosti i ostalih mikotoksina u istim namirnicama, a njihovo sinergističko djelovanje je još uvijek neistraženo (Pleadin i sur., 2015).

Ranija istraživanja u Hrvatskoj također ukazuju na povećane količine fumonizina u kukuruzu (Domijan i sur., 2005; Pleadin i sur., 2015). Osim u kukuruzu, pljesni koje proizvode fumonizine nađene su u pšenici i sojinoj sačmi. Podaci općenito pokazuju da su žitarice malog zrna (pšenica, sijerak, zob, raž, ječam i riža), sve do usklađenja i prerade, slabije podložne tvorbi mikotoksina u odnosu na žitarice velikog zrna, poput kukuruza (HAH, 2012), što je u skladu sa rezultatima ovog istraživanja utvrđenim za fumonizine.

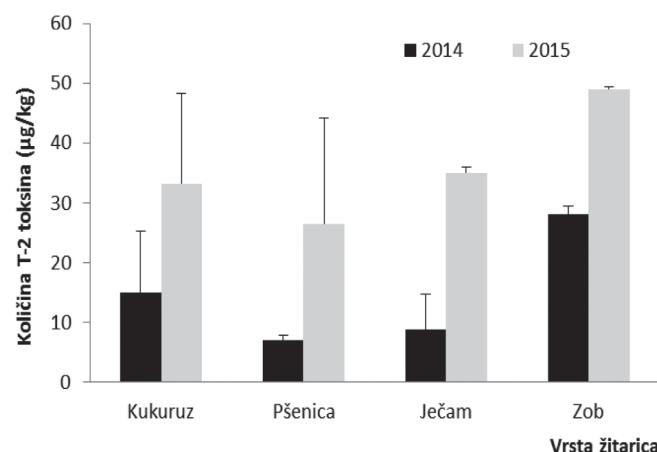
U ovom istraživanju fumonizini su detektirani u 84% uzoraka žitarica. Najveća vrijednost određena je u kukuruzu s prosječnom količinom  $898 \pm 1459$  µg/kg tijekom cijelog razdoblja uzorkovanja (2014 - 2015), a značajno manje količine u odnosu na kukuruz određene su u pšenici, zobi te ječmu. Najveće utvrđene količine fumonizina u svakoj regiji pojedinačno također su se odnosile na kukuruz. Najveća količina fumonizina od 8900 µg/kg utvrđena 2014. godine u kukuruzu iz istočnog dijela Hrvatske bila je više od četiri puta veća u odnosu na propisanu NDK za hranu od 2000 µg/kg. Takav kukuruz je međutim prikidan u proizvodnji krmnih smjesa, budući ima značajno manju količinu od NPK za fumonizin u kukuruzu kao krmivu (60000 µg/kg). Vrijednosti veće od NDK za žitarice u proizvodnji hrane, propisane Uredbom Komisije 1881/2006, određene su u ukupno pet uzoraka kukuruza, dok vrijednosti veće od NPK za krmiva navedene u Preporukama 2006/576/

EC nisu određene. Statistički značajna razlika u količini fumonizina nije utvrđena ( $p > 0,05$ ) s obzirom na godinu uzorkovanja i regiju Hrvatske.

Srednje vrijednosti T-2 toksina po vrsti žitarice i godini uzorkovanja prikazane su na slici 2.

**Slika 2.** Količina T-2 toksina u žitaricama po godini uzorkovanja

**Figure 2.** Content of T-2 toxin in cereals per year of sampling



Utvrđene vrijednosti T-2 toksina po godini uzorkovanja i regijama Hrvatske prikazane su u tablici 3.

Tablica 3. T-2 toksin u žitaricama iz različitih regija Hrvatske uzorkovanim tijekom razdoblja 2014. - 2015.

Table 3. T-2 toxin in cereals from different regions of Croatia sampled during period 2014 - 2015

Godina	Regija	N	% pozitivnih <sup>a</sup>	Mean (µg/kg)	SD (µg/kg)	Min (µg/kg)	Max (µg/kg)
2014.	Središnja	44	31	14,7	10,8	6,25	52,5
	Istočna	37	44	14,2	4,29	7,02	17,5
	Zapadna	6	33	19,3	7,42	14,2	24,5
	Južna	5	40	11,7	7,29	5,51	17,5
2015.	Središnja	40	38	29,6	19,4	10,2	75,2
	Istočna	33	42	34,0	9,72	25,1	68,1
	Zapadna	5	40	19,2	5,73	10,6	30,7
	Južna	4	50	37,2	9,93	25,4	49,3

<sup>a</sup> postotak uzoraka u kojima je T-2 detektiran (> LOD; LOD = 5,5 µg/kg)

Mean - srednja vrijednost; SD - standardna devijacija; Min - najmanja vrijednost; Max - najveća vrijednost

S obzirom da je o T-2 toksinu u hrani i hrani za životinje provedeno vrlo malo istraživanja, Europska komisija preporučila je državama članicama prikupljanje podatka o njegovim godišnjim varijacijama u ovisnosti o različitim čimbenicima, kako bi se u skorijoj budućnosti mogle definirati NDK za različite vrste hrane i hrane za životinje (EFSA, 2011). Uredbom Komisije 1881/2006 koja se odnosi na žitarice kao hranu, te Preporukama Komisije 2006/576/EZ koje se odnose na krmiva i krmne smjese, NDK i/ili NPK vrijednosti za T-2 toksin nisu definirane. Europska komisija nedugo je definirala vrijednosti indikativnih razina T-2 i HT-2 toksina u žitaricama i proizvodima na bazi žitarica namijenjenih za hranu i hranu za životinje pri kojima je, ukoliko se takve razine utvrde, potrebno poduzeti određene daljnje mjeru (Preporuka Komisije 2013/165/EU).

S obzirom na utvrđenu toksičnost, kao i činjenicu da je o prisutnosti T-2 toksina u hrani i hrani za životinje u Hrvatskoj dostupno vrlo malo podataka, potrebna je provedba dalnjih istraživanja. Podaci o kontaminaciji hrane za životinje objavljeni za razdoblje 1998. - 2004. govore o količinama T-2 toksina u rasponu od 100 do 500 µg/kg i pojavnost ovog mikotoksina u 16,8% uzoraka (Sokolović i Šimpraga, 2006). Vulić i sur. (2011) izvjestili su o najvećim količinama T-2 toksina u zobi (32,94 µg/kg). Daljnji podaci ukazali su na najveće utvrđene količine T-2 toksina od 42 µg/kg (Pleadin i sur., 2012a) i 210 µg/kg (Pleadin i sur., 2013) u kukuruzu, dovodeći u vezu utvrđene vrijednosti sa kišovitim razdobljima tijekom razdoblja uzgoja. Istraživanjem provedenim na više različitih žitarica određena je prisutnost ovog mikotoksina u 57% kukuruza, 25% pšenice, 32% ječma i 18% uzoraka zobi (Pleadin i sur., 2013).

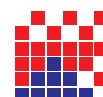
Istraživanja provedena u osam europskih zemalja na velikom broju uzoraka (preko 3000) pokazala su prisutnost T-2 toksina u 20% uzoraka. Proizvodi najčešće kontaminirani sa T-2 toksinom bili su kukuruz (28%), pšenica (21%), zob (21%) (EC, 2003). Istraživanje JECFA (2001) pokazalo je učestalost kontaminacije s T-2 toksinom od 11%, ujedno pokazujući godišnje varijacije za različite žitarice. Veće količine određene su

u neprerađenim žitaricama u odnosu na prerađene te u odnosu na proizvode na bazi žitarica namijenjene izravnoj konzumaciji, ukazujući da procesuiranje žitarica rezultira smanjenjem količine ovog toksina. Najveća prosječna količina T-2 toksina u hrani, stočnoj hrani i neprerađenim žitaricama određena je u žitaricama i zrnju za proizvodnju mlinarskih proizvoda, osobito u zobi i proizvodima od zobi (EFSA, 2011).

U ovom istraživanju T-2 toksin je detektiran u 40% uzorka. Za obje godine uzorkovanja određena je najveća količina T-2 toksina u zobi, s prosječnom vrijednosti  $38,5 \pm 0,95$  µg/kg. Ipak, količina određena u zobi nije bila statistički značajno različita u odnosu na ostale vrste žitarica ( $p > 0,05$ ). Statistički značajna razlika u količini T-2 toksina nije utvrđena niti s obzirom na godinu uzorkovanja i regiju Hrvatske. Usporedbom dobivenih vrijednosti s indikativnih razinama T-2 toksina u hrani i hrani za životinje pri kojima bi sukladno preporukama (2013/165/EU) bilo potrebno poduzeti određene daljnje mjere, u niti jednom analiziranom uzorku nije određena količina T-2 toksina koja bi upućivala na nužnost poduzimanja dalnjih mjeru odnosno mogući javnozdravstveni rizik po zdravlje u ljudi i životinja.

## Zaključak

Kontaminacija hrane i hrane za životinje mikotoksinima u količinama većim od najvećih dopuštenih ili preporučenih propisanih zakonodavstvom može predstavljati rizik po zdravlje u ljudi i životinja. U slučaju kontaminacije žitarica namijenjenih proizvodnji hrane potrebno je istražiti njihovu moguću primjenu u proizvodnji hrane za životinje. Potrebna su daljnja istraživanja koja bi uključivala uvjete produkcije fumonizina i T-2 toksina, kao i njihovih metabolita, u ovisnosti o različitim čimbenicima, te sinergističke učinke s ostalim mikotoksinima u organizmu. Kako bi se izbjegli mogući negativni učinci na zdravlje u ljudi i životinja, kao i ekonomski gubici u poljoprivredi, potrebna je sustavna kontrola ovih mikotoksina u hrani i hrani za životinje.



## Literatura

- Binder E.M., Tan, L.M., Chin, L.J., Handl, J., Richard, J. (2007) Worldwide occurrence of mycotoxins in commodities, feeds and feed ingredients. *Animal Feed Science and Technology*, 137, 265-282.
- Creppy E.E. (2002) Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicology Letters*, 127, 19-28.
- Domijan A.M. (2013) Rezultati nedavnih studija o mehanizmu neurotoksičnosti fumonizina B1. *Krniva*, 25-33.
- Domijan A.M., Peraica M., Jurjević Ž., Ivić D., Cvjetković B. (2005) Fumonisins B1, fumonisins B2, zearalenone and ochratoxin A contamination of corn in Croatia. *Food Additives and Contaminants*, 22, 677-680.
- EC (2003) Collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU member states. European Commission. Report on Task for Scientific Cooperation (SCOOP) 3.2.10 EC Brussels. <http://europa.eu.int/comm/food/fs/scoop/task3210.pdf>.
- EC (2006) Commission Recommendation 2006/576/EC 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. *Official Journal of the European Union*, L 229/7.
- EC (2013) Commission Recommendation 2013/165/EU of 27 March 2013 on the presence of T-2 and HT-2 toxin in cereals and cereal products. *Official Journal of the European Union*, L 91/12.
- EFSA (2011) Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of T-2 and HT-2 toxin in food and feed. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *EFSA Journal*, 9(12), 2481.
- Europska komisija (2006) Uredba komisije (EZ) 1881/2006 od 19. prosinca 2006. o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani. *Službeni list Europske komisije*. L 364/5.
- Glenn A.E. (2007) Mycotoxicogenic *Fusarium* species in animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, 137, 213-240.
- Hrvatska agencija za hranu (HAH) (2012) Znanstveno mišljenje o mikotoksinsima u hrani za životinje.
- IARC (*International Agency for Research on Cancer*) (1993) Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to humans, Vol. 56. IARC, Lyon.
- International Organization for Standardization. ISO 6497:2002. Animal feeding stuffs - Sampling.
- International Organization for Standardization. ISO 6498:1998. Animal feeding stuffs - Preparation of test samples.
- JECFA (2001) Evaluation of certain mycotoxins in food. WHO Technical Report Series 906. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 56<sup>th</sup> Report. Geneva. Switzerland.
- Kabak B., Dobson A.D.W., Var I. (2006) Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46, 593-619.
- Mateo J.J., Mateo R., Jimenez M. (2002) Accumulation of type A trichotecenes in maize, wheat and rice by *Fusarium sporotrichoides* isolates under diverse culture conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 72, 115-123.
- Pleadin J., Frece J., Vasilj V., Markov K. (2015) Fuzarijski mikotoksini u hrani i hranaživotinje. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 10, 6-13.
- Pleadin J., Perši N., Mitak M., Zadravec M., Sokolović M., Vulić A., Jaki V., Brstilo, M. (2012a) The natural occurrence of T-2 toxin and fumonisins in maize samples in Croatia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88, 863-866.
- Pleadin J., Zadravec M., Perši N., Vulić A., Jaki V., Mitak M. (2012b) Mould and mycotoxin contamination of pig feed in northwest Croatia. *Mycotoxin Research*, 28, 157-162.
- Pleadin J., Vahčić N., Perši N., Ševelj D., Markov K., Frece J. (2013) *Fusarium* mycotoxins' occurrence in cereals harvested from Croatian fields. *Food Control*, 32, 49-54.
- SCF (Scientific Committee on Food) (2002) Opinion of the Scientific Committee on Food on *Fusarium* toxins. Part 6: Group evaluation of T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol and deoxynivalenol. European Commission, Brussels, 27 February 2002SCF/CS/CNTM/MYC/27 Final.
- Sokolović M., Šimpraga B. (2006) Survey of trichothecene mycotoxins in grains and animal feed in Croatia by thin layer chromatography. *Food Control*, 16, 733-740.
- Thrane U., Adler A., Clasen P.E., Galvano F., Langseth W., Lew H., Logrieco A., Nielsen K.F., Ritieni A. (2004) Diversity in metabolite production by *Fusarium langsethiae*, *Fusarium poae*, and *Fusarium sporotrichoides*. *International Journal of Food Microbiology*, 95, 257-266.
- Vulić A., Pleadin J., Perši N. (2011) Determination of T-2 and HT-2 toxins in commodities and feed in Croatia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86, 294-297.
- WHO (2001) Environmental health criteria 219, Fumonisin B1. World Health Organization, Geneva. <[http://whqlibdoc.who.int/ehc/WHO\\_EHC\\_219.pdf](http://whqlibdoc.who.int/ehc/WHO_EHC_219.pdf)>. Pristupljeno ožujak 2016.