

Deoxynivalenol a zearalenon v produktech živočišné výroby jako důsledek kontaminace krmiv (*Deoxynivalenol and zearalenone in food products of animal origin as a consequence of feed contamination*)

Štočková, L., Chrpová, J.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i

Souhrn: Čtrnáct vzorků slepičích a křepelčích vajec dostupných v české maloobchodní síti bylo testováno na přítomnost deoxynivalenolu a zearalenonu s využitím ELISA kitů Ridascreen DON a Ridascreen ZEA. Vejce pocházela z různých povolených způsobů chovu a analyzován byl žloutek a bílek zvlášť. Deset vzorků obsahovalo zearalenon v koncentračním rozmezí 50,03–218,03 ng/kg, z toho pouze dva vzorky ve žloutku i bílku. Distribuce zearalenonu mezi žloutkem a bílkem nevykazovala žádný jednotný trend. Deoxynivalenol nebyl v testovaných vzorcích nalezen.

Klíčová slova: mykotoxiny, vejce, Fusarium, DON, ZEA, ELISA

Abstract: Fourteen samples of chicken and mail eggs available at Czech market were tested for deoxynivalenol and zearalenone presence using ELISA kits Ridascreen DON and Ridascreen ZEA. The eggs originated from different egg farms and factories; the yolk and albumen was always analysed separately. Ten samples contained zearalenone in the concentration range 50.03 – 218.03 ng/kg but only two samples were contaminated in yolk as well as in albumen. Any kind of trend was not found in the zearalenone distribution and any sample did not contain deoxynivalenol.

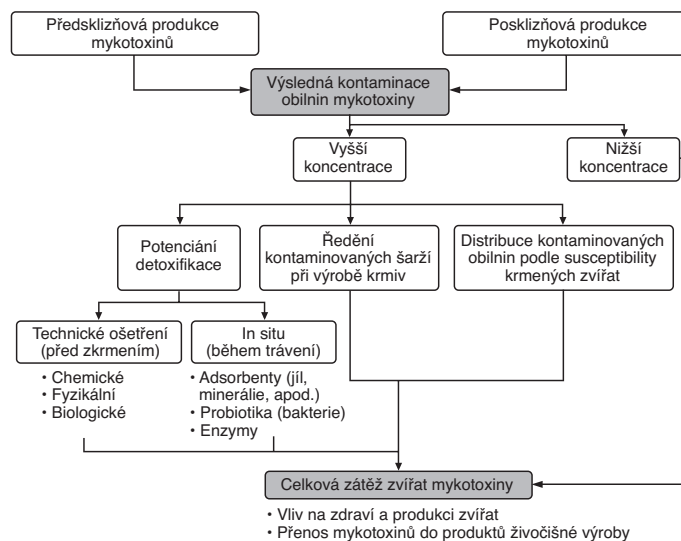
Key Words: mycotoxins, eggs, Fusarium, DON, ZEA, ELISA

Úvod

Fuzariové mykotoxiny deoxynivalenol (DON) a zearalenon (ZEA) jsou notoricky známým kontaminantem obilovin a cereálních výrobků. Jde o látky s akutní i chronickou toxicitou, deoxynivalenol indukuje buněčné transformace a chromozomální aberace a má immunosupresivní účinky. Zearalenon je strukturním analogem ženského hormonu estrogenu, pročež může ovlivňovat hormonální rovnováhu organismu (Creppy 2002, Sobrova 2010).

Legislativní limity platné v EU pro tyto toxiny stanovuje nařízení Commission Regulation EC 1126/2007. Vzhledem k rozšířenému používání moderních fungicidních přípravků a dodržování správné zemědělské praxe a dalším profylaktickým opatřením jsou nejvyšší hodnoty koncentrace těchto mykotoxinů u přirozeně kontaminovaných vzorků ze sklizně v České republice do 10 ppm a vzorků pšenice s nadlimitní kontaminací bývá v každoročním monitoringu 1–3 % (Polišenská 2011). Proto jsou akutní a subakutní toxikózy u člověka v ČR stejně jako v celém evropském prostoru vzácné, téměř vyloučené. Aktuálním tématem jsou tak spíše důsledky chronického příjmu na úrovních srovnatelných s TDI (tolerovatelná denní dávka; pro DON 1 µg/kg tělesné hmotnosti, pro ZEA 0,2 µg/kg tělesné hmotnosti).

U zvířat je situace jiná, legislativní limity pro krmiva neexistují, pouze doporučené hodnoty (2006/576/ES). Při zavádění kontrol kontaminace krmiv fusariovými mykotoxiny tak hrají roli spíše ekonomické důvody, než legislativní, neboť při zkrmování kontaminovaného obilí a obilných směsí dochází často ke snížení efektivity výroby (menší produkce vajec a mléka, nízký přírůstek, případně i úhyn zvířat chovaných na maso). Fusariové mykotoxiny jsou však poměrně stabilní sloučeniny, jejichž obsah se zpracováním příliš nemění. Díky této vlastnosti se mohou dostávat přes kontaminované krmivo do těla zvířat, kde jsou z části metabolizovány a vyloučeny, ale kontaminace přechází až do živočišných produktů (obr 1).



Obr. 1: Obecné schéma přenosu mykotoxinů do produktů živočišné výroby (převzato z Dánické 2002)

Přenos zearalenonu do mléka a vajec po orálním podání vysokých dávek toxinu byl experimentálně potvrzen již v 80. letech minulého století (Dailey 1980, Mirocha et al. 1981). Analýzy přirozeně kontaminovaných vzorků však nedávají jednoznačné výsledky.

Egyptská monitorovací studie (El Hoshy 1999) odhalila kvantifikovatelnou přítomnost ZEA v 15–30 % mléčných výrobků v koncentracích 1,2 až 13,1 µg/kg. V České republice byl proveden průzkum obsahu DON v mléčných výrobcích v roce 2010 a 2011 a byly zjištěny hodnoty zearalenonu v rozmezí 0,031–0,342 µg/kg (Chrpová et al. 2011). Danicke et al. (2002b) provedl krmený pokus na skupině 25 nosnic, kdy kontaminované krmivo (kukuřice) obsahovala 1,58 µg/kg ZEA a 17,63 µg/kg DON. Obsah DON ve vejcích nebyl zjišťován, a přenos zearalenonu do vajec se nepotvrdil, kvantifikovatelné hodnoty ZEA byly zjištěny pouze v játrech a žluči zvířat krmených kontaminovanou kukuřicí.

Tangni et al (2009) testoval přítomnost fusariových mykotoxinů DON a ZEA v belgických vejcích z domácích otevřených chovů. V polovině vzorků byla potvrzena přítomnost DON v kvantifikovatelné koncentraci (2,6–17,9 µg/kg). ZEA byl nalezen pouze v nekvantifikovatelném množství (tedy méně než 3 µg/kg) u sedmi z dvaceti testovaných vzorků.

Cílem této studie je zjistit přítomnost resp. obsah deoxynivalenolu a zearalenonu ve vzorcích vajec dostupných na českém maloobchodním trhu, porovnat výsledky s již dostupnými informacemi z jiných geografických oblastí a doplnit tak informace o výskytu těchto toxinů ve výrobcích živočišného původu.

Materiál a metody

K analýze bylo vybráno 14 vzorků vajec běžně dostupných na českém maloobchodním trhu tak, aby pokryly co nejširší spektrum dodavatelů. Převažovaly vejce slepičí, menšinu tvořily vejce křepelčí. Výběr slepičích vajec pokrýval všechny dovolené způsoby chovu, neboť existuje předpoklad, že chov může být jeden z faktorů ovlivňujících hladinu kontaminantů ve finálním produktu. Žloutek a bílek byly analyzovány zvlášť, neboť jsme předpokládali, že v případě kontaminace se budou sledované mykotoxiny v obou částech vejce hromadit s rozdílnou intenzitou. Vejce byla analyzována čerstvá.

Produkty živočišné výroby obecně představují oříšek pro analýzu pomocí imunochemické screeningové metody ELISA, která je v laboratořích VÚRV používána. Matrice je bohatá na tuky a na bílkoviny v porovnání s obilným šrotem, kde převažuje sacharidová složka. Nadto může být část mykotoxinů přítomna ve vázané formě s kyselinou glukuronovou nebo jinak metabolizována. Kritickým krokem vyžadujícím pozornost je proto příprava vzorku. Postup extrakce a rozdíly mezi extrakcí obilných vzorků a vajec jsou popsány v tabulce 1. Pro analýzu byly použity komerční kity firmy R.Biopharm ELISA RidaScreen ZEA (limit detekce (LOD) = 18 ng.kg⁻¹ and a limit kvantifikace (LOQ) = 30 ng.kg⁻¹) a ELISA RidaScreen DON (LOD = 1,8 µg.kg⁻¹ a LOQ = 3,7 µg.kg⁻¹). Správnost analýzy byla ověřena na uměle kontaminovaných vzorcích neboť pro tyto kombinace matrice-toxin neexistují referenční materiály.

(2002) přítomnost zearalenonu v kvantifikovatelném množství ve vejcích nezjistili, rozdíl v závěrech však může být dán tím, že při našem experimentu byla použita metoda s nízkým limitem detekce a kvantifikace, naproti tomu obě výše zmíněné studie však používaly metody, jejichž detekční limity se pohybují v řádu µg/kg.

Přítomnost DON na rozdíl od již publikovaných výsledků nebyla ve vejcích potvrzena ani v jednom testovaném vzorku. Vzhledem k nízkým hladinám tohoto toxinu, které byly nalezeny v předchozí studii (Tangni et al. 2009) nelze vyloučit možnost, že deoxynivalenol byl ve vzorcích přítomen v nižších koncentracích, než je limit detekce námi použité metody.

Závěr

Kontaminace ve vzorcích nepotvrdila žádné očekávané trendy a rozdíly mezi způsoby chovu, druhy vajec, ani mezi obsahem ZEA ve žloutku a bílku, nicméně soubor testovaných vzorků je příliš malý pro to, aby z něj bylo možné vyvozovat jednoznačné závěry v tomto směru.

Co je však možné vyvodit, je fakt, že kontaminace vajec dostupných na českém maloobchodním trhu zearalenonem existuje a ačkoliv není tak vysoká, aby sama o sobě představovala akutní nebo chronické riziko (tolerovatelná denní dávka je pro zearalenon stanovena na 200 ng/kg tělesné hmotnosti), může přispět k celkovému přijatému množství za den. Výsledky naší studie tak zcela jistě nemohou podpořit vytváření hygienických limitů pro další potravinářské produkty nepocházející z obilovin, zato poukazují na nutnost kontrolovat vedle hygienické kvality potravinářských obilovin také kvalitu krmiv i z hlediska obsahu vybraných fusariových mykotoxinů, protože ty se tímto způsobem mohou dostávat až ke spotřebiteli.

Poděkování

Výsledky byly získány díky podpoře projektu MŠMT OC10015 „Rezistence k fusarióze klasu a k akumulaci mykotoxinů v zrnu obilovin pro zvýšení bezpečnosti krmiv“, který je součástí COST FA O802 “Feed for Health”.

Literatura

Creppy E. E. (2002): Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe, Toxicology Letters, Volume: 127, Issue: 1, Pages: 19-28.

Dailey, R. E., Reese R. E., and Brouwer E. A. (1980): Metabolism of [14C] zearalenone in laying hens. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Volume:28, Issue: 2, Pages: 286–291.

Dänicke S. (2002): Fusarium toxins in animal nutrition; Lohman Information, Volume: 27 Pages: 1–9.

Dänicke S., Ueberschär K.-H., Halle I., Matthes S., Valenta H., Flachowsky G. (2002): Effect of Addition of a Detoxifying Agent to

Tab. 1: Postup extrakce obilných vzorků a vajec pro analýzu DON a ZEA kity Ridascreen

Matrice	Enzymatické ošetření	Extrakce	Přečištění vzorku	Analýza
Obiloviny	--	5 g vzorku/25 ml vody pro stanovení DON; 5 g/25 ml MeOH/voda 50:50 pro stanovení ZEA	--	Ridascreen DON Ridascreen ZEA
Vejce	3 g vzorku na 15 µl směsi glucuronidázy/arylsulfatázy EC 3.2.1.31/EC 3.1.6.1.	Pro stanovení DON 1,5 g vzorku/15 ml AcCN/voda 84:16 Pro stanovení ZEA: 1,5 g vzorku na 15 ml směsi MeOH/voda 50:50;	Rida C18 pro ZEA (aliquot 1 g matrice); MycoSep 225 pro DON (aliquot 1 g matrice)	

Výsledky

Ze čtrnácti testovaných vzorků byla v jedenácti vzorcích potvrzena přítomnost zearalenonu. V jednom případě šlo o přítomnost nekvantifikovatelného množství tohoto toxinu, v ostatních vzorcích bylo množství možno kvantifikovat. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 2. Všechny zjištěné hodnoty se pohybovaly při dolním konci kalibrační křivky. Tangni et al (2009) ani Danicke et al.

Laying Hen Diets Containing Uncontaminated or FusariumToxin-Contaminated Maize on Performance of Hens and on Carryover of Zearalenone, Poultry Science Volume: 81, Issue: 11, Pages: 1671–1680.

El-Hoshy S. M (1999): Occurrence of zearalenone in milk, meat and their products with emphasis on influence of heat treatments on its level, Archiv für Lebensmittelhygiene, Volume: 50 Issue: 6, Pages: 140–143.

Chrpová, J., Štočková, L., Šíp, V. (2011): Fuzariózy klasu a jejich vliv na hygienickou kvalitu Úroda, Ročník: 59, Číslo: 12, Strany: 10–14.

Mirocha C.J., Pathre S.V., Robinson T.S. (1981): Comparative metabolism of zearalenone and transmission into bovine milk, Food and Cosmetics Toxicology, Volume:19, Issue: 1, Pages: 25–30.

Polišenská I. (2011): Fuzáriové mykotoxiny v obilovinách sklizně 2010; Obil. Listy Ročník: 19, Číslo: 1, Strany: 9–12.

Sobrova P, Adam V., Vasatkova A, Beklova M., Zeman L., Kizek R. (2010): Deoxynivalenol and its toxicity, Interdisciplinary toxicology, Volume: 3 Issue: 3: Pages: 94–99.

Tangni E.K., Waegeneers N., Van Overmeire I., Goeyens L., Pussemier L. (2009): Mycotoxin analyses in some home produced eggs in Belgium reveal small contribution to the total daily intake, Science of The Total Environment, Volume: 407, Issue: 15, Pages: 4411–4418.

(recenzováno)

Kontaktní adresa: stockova@vurv.cz



Tab. 2: Charakteristika testovaných vzorků vajec a výsledky stanovení ZEA.

Číslo vzorku	Druh	Způsob chovu	Třída	Velikost	Země původu	ZEA ng/kg	
						Žloutek	Bílek
1	slepičí	BIO	A		SK	pod LOD	67,3
2	slepičí	BIO	A	M	ČR	123,83	93,68
3	slepičí	na podestýlce	A	M	ČR	57,14	pod LOD
4	slepičí	na podestýlce v halách	A	M	ČR	<LOQ	50,03
5	slepičí	BIO	A	M	ČR	<LOQ	63,8
6	slepičí	omega pro, v klecích	A	M	ČR	65,54	<LOQ
7	slepičí	cereální, v klecích	A	M	ČR	52,74	59,43
8	slepičí	cereální, nosnice v halách	A	L	ČR	<LOD	<LOD
9	slepičí	nosnice v halách	A	M	ČR	<LOD	<LOD
10	slepičí	nosnice v klecích	A	L	ČR	<LOD	<LOD
11	slepičí	na podestýlce v halách	A	L	ČR	218,23	<LOD
12	slepičí	nosnice v klecích	A	M	ČR	54,29	<LOD
13	křepelčí	neuveдено	--	--	ČR	<LOQ	<LOD
14	křepelčí	neuveдено	--	--	ČR	72,36	<LOD