

# Kontaminace ova fuzáriovými mykotoxiny a její původci (Contamination of oats by *Fusarium* mycotoxins and occurrence of their producers)

Polišenská, I., Jirsa, O.  
Agrotest fito s.r.o., Havlíčkova 2787, 767 01 Kroměříž

## Souhrn

Kontaminace fuzáriovými mykotoxiny a přítomnost patogenů *Fusarium* byla sledována u 119 vzorků ova sklizeného v České republice v letech 2007-2011. Nejčastěji byly vzorky pozitivní na obsah HT-2 toxinu, nejvyšší koncentrace byly zjištěny pro obsah nivalenolu (NIV). Většina vzorků ova splnila limity pro maximální obsah fuzáriových mykotoxinů v ovsu určeném pro potravinářské zpracování, ve kterém je podle nařízení Komise (ES) č. 1881/2006 limitován obsah deoxynivalenolu (DON) ve výši 1750 µg/kg a zearalenonu (ZEA) ve výši 100 µg/kg. Všechny vzorky ova splnily limit pro DON, dva vzorky (tj. 2 % z analyzovaných 119 vzorků) přesáhly limit pro obsah ZEA. Maximální zjištěná hodnota obsahu ZEA činila 165 µg/kg. Evropskou Komisí navržený a v současné době diskutovaný limit pro součet obsahu T-2 a HT-2 toxinů ve výši 1000 µg/kg by splnily všechny vzorky. Nejčastěji zjištěným patogenem z rodu *Fusarium* na zrnu ova bylo *F. poae*, které bylo v průměru let zjištěno u 64 % všech vzorků. Druhým nejčastějším bylo *F. graminearum* (na 13 % vzorků), následováno *F. langsethiae* (11 %) a *F. sporotrichioides* (9 %).

**Klíčová slova:** oves, mykotoxiny, DON, deoxynivalenol, T-2, HT-2, *Fusarium*

## Abstract

In total, 119 oat samples harvested in the Czech Republic during 2007-2011 were analysed for the content of *Fusarium* mycotoxins and the presence of *Fusarium* pathogens. Most oat samples were positive in the content of HT-2 toxin, nivalenol was found at the highest concentrations from all mycotoxins analysed. Almost all samples complied with the maximum limits for mycotoxin content in oats for food purposes according to Commission Regulation No. 1881/2006. All oat samples were below the limit for maximum deoxynivalenole (DON) content at the level of 1750 µg/kg, two samples (2 % from 119 samples analysed) exceeded the maximum limit for zearalenone (ZEA) at the level of 100 µg/kg, the highest estimated ZEA value was 165 µg/kg. All samples would comply with proposed limit for the sum of T-2 and HT-2 toxins (1000 µg/kg). Prevalence of *F. poae* was found out, as this pathogen was detected on 64 % of all oat samples. The second most frequent pathogen was *F. graminearum* (detected on 17 % of samples), followed by *F. langsethiae* and *F. sporotrichioides* (both found on 9 % of oat samples).

**Key Words:** oats, mycotoxins, DON, deoxynivalenol, T-2, HT-2, *Fusarium*

## Úvod

### Klasová fuzária nejen na pšenici

Mezi houbové choroby obilovin s velkým potenciálem škodlivosti patří klasová fuzária, způsobená komplexem patogenů *Fusarium*. Napadají zejména pšenici, ječmen, žito, kukuřici ale také, jak ukázala nedávná zjištění, i oves. Kromě toho, že důsledkem napadení může být snížení výnosu a pokles zpracovatelské kvality, kontaminují původci klasových fuzarióz obiloviny svými toxickými produkty, mykotoxiny. Některé patogenní druhy vyskytující se v rámci tohoto komplexu mykotoxiny produkují (druhy *Fusarium* spp.), jiné ne (*Microdochium* spp. – dříve *Fusarium nivale* spp.) a situace je o to složitější, že různé druhy *Fusarium* produkují různé toxiny.

Výskyt druhů rodu *Fusarium* na klasech obilovin je proměnlivý a ovlivňuje jej počasí, agrotechnika pěstování, lokalita a také druh hostitelské obiloviny. Nejznámějšími a v Evropě nejčastěji se vyskytujícími druhy jsou *F. graminearum* a *F. culmorum* (Mesterházy, 2003). Ačkoliv se tyto druhy běžné na pšenici mohou vyskytovat i na ovsu, v evropských podmínkách se na ovsu častěji prosazují druhy, jako jsou *F. poae*, *F. langsethiae* a *F. sporotrichioides*. Druh *F. langsethiae* byl nalezen poprvé na obilovinách v Evropě teprve před několika lety (Torp a Langseth 1999). Symptomy napadení obilovin druhem *F. langsethiae* lze pozorovat pouze vzácně, a to i po provedení umělých infekcí (Imathiu et al., 2009). Dosavadní zjištění ukazují, že tento druh preferuje z obilovin jako hostitele právě oves, případně také ječmen. Zatímco společnou vlastností známějších druhů *F. graminearum* a *F. culmorum* je produkce trichothecenů typu B, mezi které patří zejména deoxynivalenol (DON), nivalenol a další, a také produkce zearalenonů, toxickými metabolity druhů *F. poae*, *F. langsethiae* a *F. sporotrichioides* jsou T-2 a HT-2 toxiny a další jejich deriváty, patříci

do skupiny trichothecenů typu A. U *F. poae* se uvádí, že je možná koprodukce nivalenolu (trichothecen B) a T-2 toxinu (trichothecen A) (Desjardins 2006). T-2 a HT-2 toxiny jsou účinnými inhibitory syntézy proteinů a jejich toxicita je mnohonásobně vyšší než DON. Vysoké hladiny obsahu T-2 a HT-2 v ovsu byly zjištěny ve Velké Británii (Edwards 2009), a také v Norsku, Finsku a dalších skandinávských zemích (Pettersson et al., 2011).

### Legislativa pro obsah mykotoxinů pamatuje i na oves

Současná legislativa EU limitující obsah kontaminantů v potravinách (nařízení Komise (ES) č. 1881/2006) již T-2 a HT-2 toxiny uvádí mezi limitovanými, avšak bez konkrétních hodnot. Definitivní výše limitu je stále diskutována v pracovní skupině pro zemědělské kontaminanty expertního výboru Evropské Komise. Problémem je mj. nedostupnost rychlých detekčních metod a není také dostatečně znám vliv jednotlivých agrotechnických faktorů na jejich výskyt, který by umožnil vypracovat strategii správné zemědělské praxe pro prevenci obsahu těchto mykotoxinů v ovsu.

Z vědeckého stanoviska EFSA (European Food Safety Authority) vyplývá relativně nízká expozice evropského spotřebitele k T-2 a HT-2 toxinům (EFSA 2011). Podle posledního návrhu Evropské Komise ze dne 13.1.2012 je pro nezpracovaný potravinářský oves navržen maximální limit pro součet T-2 a HT-2 toxinů ve výši 1000 µg/kg. Pro jiné druhy obilovin jsou limity mnohem nižší, a to pro pšenici 50 µg/kg, pro ječmen 200 µg/kg a pro kukuřici 150 µg/kg. Jsou to však zatím pouze návrhy a dosud pro nezpracovaný potravinářský oves prakticky platí limit pouze pro obsah DON a ZEA. Hodnota maximálního limitu pro obsah DON v ovsu činí 1750 µg/kg a je tedy vyšší než u pšenice obecné, pro kterou platí 1250 µg/kg. Pro obsah ZEA je limit stejný jako

u pšenice, a to 100 µg/kg. Tyto limity se vztahují na obiloviny před prvním zpracováním, tj. v případě pluchatého ovsa jsou tedy určeny pro oves neloupaný.

### Jaká je situace v ČR?

Informace o kontaminaci ovsa a ovesných produktů fuzáriovými mykotoxiny byly dosud známy převážně ze zahraničí. Proto bylo cílem systematického sledování výskytu mykotoxinů v ovsu provedeného v rámci projektu Ministerstva zemědělství ČR (NAZV QH81060) v letech 2007-2011 zjistit úroveň výskytu fuzáriových mykotoxinů v ovsu na reprezentativním souboru vzorků ovsa pocházejícího od českých pěstitelů. Otázkou bylo, zda český oves určený pro potravinářské účely splňuje platné limity pro obsah kontaminantů a zda by zavedení nových limitů pro T-2 a HT-2 toxiny způsobilo českým pěstitelům a zpracovatelům ovsa potíže. Pro přípravu změn v legislativě a pro odpovídající nastavení limitu pro maximální obsah T-2 a HT-2 toxinů si Evropská Komise vyžádala zpracování vědeckého stanoviska od organizace EFSA, která požádala jednotlivé členské země o data o výskytu těchto mykotoxinů.

Protože je v zájmu každé členské země, aby legislativa brala v úvahu i jejich konkrétní situaci, byla organizaci EFSA zaslána také data získaná v rámci řešení výše uvedeného projektu, a to jak údaje o výskytu mykotoxinů v nezpracovaném ovsu, shrnuté v tomto článku, tak také údaje o jejich výskytu ve výrobcích z ovsa, získané na základě spolupráce s českými ovesnými mlýny (Polišenská et al., 2011).

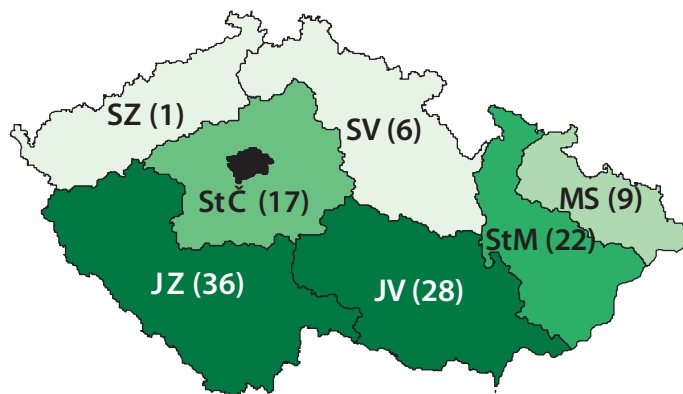
Cílem prezentovaného výzkumu bylo zjistit celkovou úroveň kontaminace ovsa sklizeného v ČR vybranými fuzáriovými mykotoxiny a srovnat zjištěné výsledky s legislativními limity, resp. návrhy limitů.

### Materiál a metoda

Obsah mykotoxinů byl sledován ve vzorcích ovsa získaných přímo od farmářů z běžných provozních ploch. Vzorky byly odebrány reprezentativním způsobem bezprostředně po kombajnové sklizni. Celkem bylo získáno 119 vzorků ovsa sklizených v ČR v letech 2007-2011 (obr. 1). Z toho bylo 87 vzorků pluchatých odrůd (Atego, Neklan, Pogon, Auron, Azur, Raven, Ardo, Corneil, Flamingskrone, Flamingsnova, Max, Pan, Polar, Rozmar, Vendelín, Vok, Zlaták) a 32 vzorků nahých odrůd (Saul, Avenuda, Izak, Abel). U všech vzorků byl analyzován obsah T-2 a HT-2 toxinů, DON a ZEA, a také méně známých a dosud nesledovaných mykotoxinů jako je DON-3-glucosid (D3G) a nivalenol (NIV). Analýzy byly provedeny v laboratoři Ústavu analýzy potravin VŠCHT Praha metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie spojené s hmotnostní spektrometrií s vysokým rozli-

šením (UPLC-TOFMS), podle postupu popsaného v práci Zachariasova et. al (2010). Data byla zpracována s využitím statistického software Statistica Cz, verze 8.0 (Statsoft CR s.r.o.).

**Obr. 1:** Původ ovsa analyzovaného na obsah mykotoxinů a přítomnost patogenů *Fusarium*, sklizeného v ČR v letech 2007-2011. Počty vzorků sklizených v jednotlivých regionech jsou udány čísla v závorkách: StČ – Střední Čechy, JZ – Jihozápad, SZ – Severozápad, SV – Severovýchod, JV – Jihovýchod, StM – Střední Morava, MS – Moravskoslezsko, celkem 119 vzorků



Kromě průměrných hodnot obsahu mykotoxinů jsou používány hodnoty mediánu, tak jak je to při hodnocení úrovně výskytu kontaminantů s velmi rozdílnými hodnotami obvyklé. Mediánem rozumíme hodnotu obsahu určitého mykotoxinu toho vzorku, který leží při seřazení všech vzorků podle hodnoty obsahu tohoto mykotoxinu právě uprostřed. Detekce a určení druhů *Fusarium* bylo provedeno metodou molekulární PCR detekce podle postupu publikovaného Salavou et al. (2010).

### Výsledky

#### Druhy *Fusarium*

Nejčastěji zjištěným druhem *Fusarium* bylo *F. poae*, které bylo v průměru sledovaných let nalezeno na 64 % ze 119 analyzovaných vzorků ovsa (Obr. 2). Četnost nálezů *F. poae* byla variabilní, a to od 4 % v roce 2008 po 100 % v roce 2011, tj. v roce 2011 bylo *F. poae* přítomno na všech vzorcích ovsa. V roce 2008 byly patogeny *Fusarium* obecně nalézány jen zřídka, z 26 vzorků ovsa analyzovaných v tomto roce byl některý z druhů *Fusarium* zjištěn jen na 3 vzorcích ovsa. Naopak v roce 2011 byl na všech 19 analyzovaných vzorcích

zjištěn alespoň jeden druh *Fusarium* a na téměř polovině vzorků byl zjištěn současný výskyt minimálně dvou druhů. Druhým nejčastěji zjištěným druhem *Fusarium* bylo *F. graminearum* (13 %), těsně následováno *F. langsethiae* (11 %) a *F. sporotrichioides* (9 %). Nejméně často se vyskytovalo *F. avenaceum* a *F. culmorum*, s frekvencí výskytu 5 %.

#### Kontaminace mykotoxiny

Z hlediska frekvence výskytu pozitivních vzorků byl převládajícím mykotoxinem HT-2 toxin, přičemž jako pozitivní jsou hodnoceny ty vzorky, které mají obsah daného toxinu vyšší, než je jeho limit kvantifikace (LOQ). Pro použitou metodu byly LOQ následující: pro DON, FUS-X, HT-2 a T-2 5 µg/kg, pro DON-3-Glc a ADONs 10 µg/kg a pro NIV 25 µg/kg. Z hlediska výše koncentrací byl dominantním mykotoxinem NIV (Tab. 1).

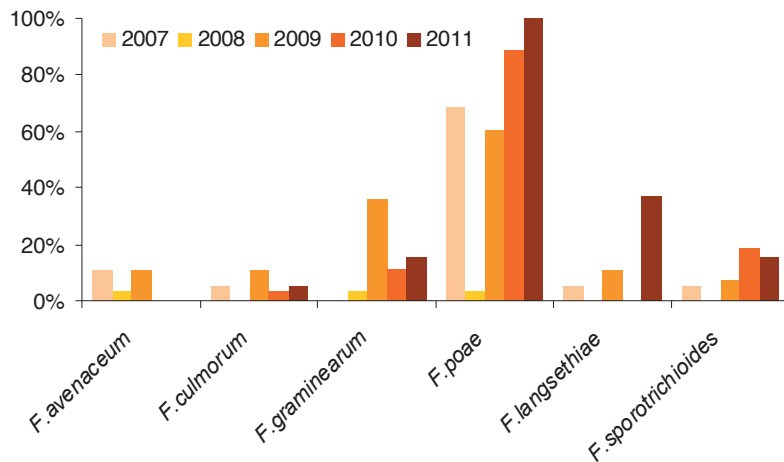
**Tabulka č. 1:** Výskyt mykotoxinů (T-2, HT-2, DON, D3G, NIV, ZEA) v ovsu sklizeném v České republice v letech 2007 – 2011, 119 vzorků.

|      | Vzorky nad LOQ* (%)** | Koncentrace mykotoxinů (µg/kg) |        |      |
|------|-----------------------|--------------------------------|--------|------|
|      |                       | Průměr                         | Medián | Max  |
| T-2  | 54                    | 21                             | 7      | 474  |
| HT-2 | 73                    | 49                             | 21     | 501  |
| DON  | 48                    | 30                             | < 5    | 892  |
| D3G  | 31                    | < 10                           | < 10   | 102  |
| NIV  | 63                    | 161                            | 37     | 2202 |
| ZEA  | 9                     | < 5                            | < 5    | 165  |

\*LOQ limit kvantifikace: pro DON, HT-2, T-2 a ZEA je LOQ = 5 µg/kg, pro D3G je LOQ = 10 µg/kg, pro NIV je LOQ = 25 µg/kg,

\*\*ročníkový průměr

**Obr. 2:** Četnost výskytu druhů *Fusarium* na běžných vzorcích ovsu sklizeného v ČR v letech 2007-2011



V průměru let bylo 73 % sledovaných vzorků ovsu pozitivních na obsah HT-2 toxinu, v jednotlivých letech se podíl HT-2 pozitivních vzorků pohyboval mezi 42 % v roce 2011 až po 96 % v roce 2009. Absolutně nejvyšší hodnota obsahu HT-2 toxinu byla zjištěna v roce 2008, a to 501 µg/kg. U tohoto vzorku byla hodnota T-2 toxinu 217 µg/kg, takže ani u tohoto nejvíce kontaminovaného vzorku součet T2+HT2 nepřesáhl navrženou limitní hodnotu ve výši 1000 µg/kg. Průměry obsahu nejvýznamnějších mykotoxinů jsou uvedeny v grafu na obr. 3. Obsah HT-2 toxinu je uveden v součtu s obsahem T-2 toxinu, a to pro snadnější srovnání s navrhovaným legislativním limitem, který je dán pro tento součet.

Druhým nejčastěji detekovaným mykotoxinem byl NIV a současně u tohoto mykotoxinu byly zjištěny absolutně nejvyšší koncentrace výskytu. V průměru sledovaných let bylo 63 % všech sledovaných vzorků ovsu pozitivních na obsah NIV, v jednotlivých letech se podíl pozitivních vzorků pohyboval od 38 % v roce 2008 po 84 % v roce 2007. Nejvyšší koncentrace NIV byla zjištěna také v roce 2007, a to 2202 µg/kg.

Třetím nejčastěji se vyskytujícím mykotoxinem byl T-2 toxin. Průměrný ročníkový podíl pozitivních vzorků činil 54 %, přičemž se pohyboval od 21 % v roce 2011 po 69 % v roce 2008. Nejvyšší koncentrace T-2 byla zjištěna ve výši 474 µg/kg v roce 2007 a obsah HT-2 u tohoto vzorku byl 472 µg/kg.

DON byl čtvrtým nejčastěji se vyskytujícím mykotoxinem a v průměru sledovaných let bylo na obsah tohoto mykotoxinu pozitivních 48 % vzorků. V jednotlivých letech se podíl pozitivních vzorků pohyboval od 11 % v roce 2011 až po 68 % v roce 2010. Maximální zjištěná hodnota obsahu DON činila 892 µg/kg, jednalo se o vzorek ze sklizně 2010. I když pozitivní hodnoty obsahu ZEA byly zjištěny jen u 9 vzorků ovsu, u dvou z nich byl obsah ZEA vyšší než 100 µg/kg a přesáhl tak legislativní limit. Nejvyšší zjištěná koncentrace ZEA činila 165 µg/kg.

## Diskuse a závěr

### Spektrum mykotoxinů i druhů *Fusarium* je v ovsu jiné než u pšenice

Bylo zjištěno, že na ovsu převládaly jiné druhy *Fusarium*, než je obvyklé na pšenici a odpovídal tomu také odlišný charakter kontaminace mykotoxiny. V ovsu dominovaly HT-2 a T-2 toxiny a nivalenol. U pšenice nejhodněji se vyskytující DON byl u ovsu v pořadí až čtvrtým v četnosti výskytu. Všechny vzorky splnily v současné době platný limit pro DON i navržený a dosud neschválený limit pro T-2 a HT-2 toxiny. ZEA, vyskytující se běžně také u pšenice, byl u ovsu zjišťován zřídka, avšak u 2 vzorků byly zjištěny jeho poměrně vysoké koncentrace překračující limit 100 µg/kg.

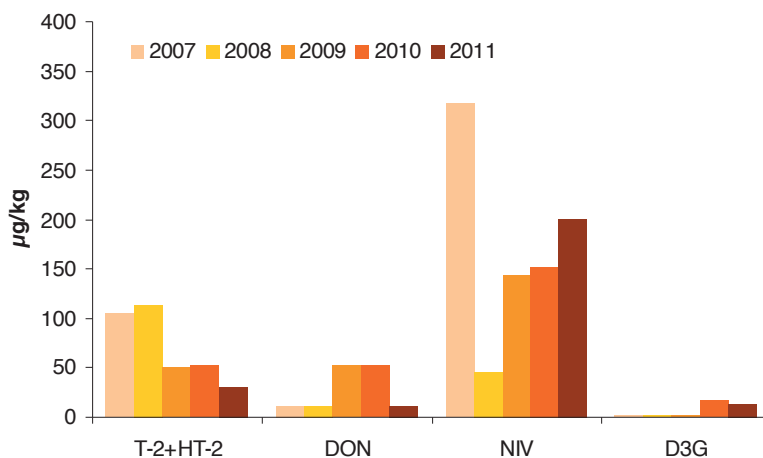
Jak vyplynulo ze sledování výskytu mykotoxinů v českých ovesných mlýnech (Polišenská et al., 2011), obsahy mykotoxinů u vzorků nezpracovaného ovsu na vstupu do mlýnů byly nižší, než u vzorků z výše uváděného průzkumu na vzor-

cích odebíraných u pěstitelů přímo od kombajnu. Tuto skutečnost, tj. že obsah mykotoxinů ve vzorcích v ovesných mlýnech je nižší v porovnání se vzorky odebíranými u pěstitelů, je uváděna také z jiných zemí, např. ze Švédska (Pettersson et al. 2011). Důvodem může být skutečnost, že do ovesných mlýnů na potravinářské zpracování se dostává kvalitnější oves, na rozdíl od méně kvalitního, který se používá na převážně krmné účely. Také se může jednat o oves již předčištěný. Bylo prokázáno, že již i samotné čištění redukuje obsah mykotoxinů (Polišenská et al., 2011), a to i u nahého ovsu.

### Obsah mykotoxinů při zpracování ovsu dále klesá

Celý proces mlýnského zpracování ovsu obsah mykotoxinů podstatně snižuje. Hlavním krokem, při kterém k tomu dochází je loupání, protože převážná část mykotoxinů je obsažena právě ve slupkách. Jak uvádí Scudamore et al. (2007), při loupání ovsu dochází ke snížení obsahu fuzáriových mykotoxinů o 70 až 95 % a v celém procesu výroby ovesných vloček je pak odstraněno 90-95 % veškeré kontaminace fuzáriovými mykotoxiny. To je však

**Obr. 3:** Průměrné hodnoty kontaminace běžných vzorků ovsu sklizeného v ČR v letech 2007-2011 některými fuzáriovými mykotoxiny



nutno brát v úvahu, pokud jsou vedlejší produkty zpracování ovsu dále zkrmovány, protože oč se sníží obsah mykotoxinů v ovesných vločkách, o to vyšší je v samotných slupkách a drobném odpadu. K poklesu obsahu toxinů

### **Zdravotní přínosy konzumace ovsu jsou nezpochybnitelné**

V žádném případě informace o možném výskytu mykotoxinů v ovsu nezpochybňují zdravotní přínosy konzumace ovsu. Z dietetického hlediska je oves nutričně nejvyváženějším ze všech druhů obilovin. Kromě toho, že obsahuje vzhledem k ostatním obilovinám nejvíce proteinů, tyto proteiny mají některé zvláštnosti, zejména mnohem vyšší podíl albuminů a globulinů a svým složením se blíží ideální bílkovině.



Ovesný tuk má velmi dobrý poměr nasycených a nenasycených mastných kyselin. Hlavní energetickou složkou ovesného zrna je škrob, zbytek zrna tvoří vláknina. Speciální složkou vlákniny je její rozpustná část, tvořená především beta-glukany. U této látky byl prokázán pozitivní vliv na lidské zdraví, zejména je ceněna její schopnost snižovat podíl "špatného" LDL-cholesterolu. Nezanedbatelný je obsah mikroprvků (Mg, Fe, P, Ca) a vitamínů, zejména E a B1. Pro tyto vlastnosti byly ovesné vločky vyhlášeny americkou Komisí pro potraviny a léky funkční potravinou. Nedávné výzkumy prokázaly, že konzumace ovsu snižuje riziko vzniku zvýšeného krevního tlaku, diabetu druhého typu i obezity. Za další kvalitativní znak s pozitivním vlivem na lidské zdraví se považují jeho antioxidační účinky, spojené s obsahem unikátních polyfenolických látek, avenanthramidů, které nejsou přítomné v žádných jiných obilovinách.

### **Použitá literatura**

Desjardins, A., E. (2006): *Fusarium* Mycotoxins. Chemistry, Genetics, and Biology. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota U.S.A.

Edwards, S.G. (2009): *Fusarium* mycotoxin content of UK organic and conventional oats. *Food Additives and Contaminants*, 26:1063-1069.

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 Journal* 9 (12): 2481

Imathiu, S.M., Ray, R.V., Back, M., Hare M.C., Edwards, S.G. (2009): *Fusarium langsethiae* pathogenicity and aggressiveness towards oats and wheat in wounded and unwounded *in vitro* detached leaf assays. *Eur J Plant Pathol* 124: 117-126.

Mesterházy, A. (2003): Breeding wheat for *Fusarium* head blight resistance in Europe. In: Leonard K. J. Bushnell, W.R., *Fusarium Head Blight of Wheat and Barley*. Ed., The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA, 312 pp.

Pettersson, H., Brown, C., Hauk, J., Hoth, S., Meyer, J., Wessels, D. 2011: Survey of T-2 and HT-2 toxins by LC-MS/MS in oats and oat products from European mills in 2005-2009. *Food Addit Contam Part B Surveill*. 2011 June; 4(2):110-115.

Polišenská, I., Jirsa, O., Nedomová, L. (2011): Kontaminace ovsu a ovesných produktů fuzáriovými mykotoxiny. *Úroda*, 59(2): 26-30. Salava, J., Novotný, D., Polišenská, I.: Detekce *Fusarium langsethiae* molekulárními metodami. Certifikovaná metodika pro praxi. VÚRV Praha, 2010.

Torp, M., Langseth, (1999): Production of T-2 toxin by a *Fusarium* resembling *Fusarium poae*. *Mycopathologia* 147: 89-96.

Zachariasova M., Lacina O., Malachova A., Kostelanska M., Poustka J., Godula M., Hajslova J.: Novel approaches in analysis of *Fusarium* mycotoxins in cereals employing ultra performance liquid chromatography coupled with high resolution mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 662 (2010), 51-61.

/Recenzováno/

**Kontaktní adresa:** polisenska.ivana@vukrom.cz

### **Poděkování**

Poděkování patří všem pěstitelům, kteří nám poslali své vzorky ovsu a umožnili tak provedení výzkumu, dále prof. Ing. Janě Hajšlové, CSc. a jejímu kolektivu z laboratoře Ústavu analýzy potravin VŠCHT Praha za provedení analýz mykotoxinů na vynikající úrovni a Dr. Ing. Jaroslavu Salavovi z VÚRV Praha za bezchybnou identifikaci patogenů *Fusarium*. Projekt QH81060 byl financován MZe ČR.

