

LUDWIK CZERWIECKI

WYKRYWANIE I OZNACZANIE WYBRANYCH MYKOTOKSYN W ZBOŻACH*

Z Zakładu Badania Żywności i Przedmiotów Użytku
Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie
Kierownik: prof. dr *M. Nikonorow*

Zbadano próbki zbóż krajowych pochodzących ze zbiorów 1979 roku na zawartość aflatoksyny B₁, sterygmatocystyny i ochratoksyny A stosując metodę chromatografii cienkowarstwowej w połączeniu z metodą spektrofluorymetryczną.

Ostatnio coraz częściej liczne choroby ludzi i zwierząt przypisuje się występowaniu mykotoksyn w żywności i płodach rolnych. Przykładem mogą być m.in. choroby nowotworowe wywoływane przez aflatoksyny i sterygmatocystynę [1, 10, 15, 16]. Znane są doniesienia o endemicznym schorzeniu nerek na Bałkanach u ludzi zamieszkujących tereny, na których stwierdzono częste występowanie ochratoksyny w pożywieniu [11]. Przypadki nefropatii trzody chlewnej skarmianej paszą zawierającą m.in. ochratoksynę A opisano w Danii [8].

Środki spożywcze stanowią doskonałe podłoże dla rozwoju wielu grzybów, w tym, toksynotwórczych. Toteż prawie wszystkie artykuły spożywcze a także surowce do ich produkcji mogą stanowić źródło niebezpiecznych dla zdrowia mykotoksyn.

Aflatoksyna B₁ występująca głównie w orzechach arachidowych wykrywana jest także w zbożach podobnie jak sterygmatocystyna i ochratoksyna A [4, 13]. W paszach dla zwierząt, które przygotowywane są na ogół ze zbóż i innych surowców gorszej jakości, zawartości toksyn mogą być znaczne. Pociąga to za sobą niebezpieczeństwo pojawienia się mykotoksyn lub ich metabolitów w mleku lub mięsie zwierząt gospodarskich [3, 7, 12].

Wobec istnienia tylko nielicznych badań w kraju, dotyczących występowania mykotoksyn w zbożach [5, 6, 9, 14] uważano za celowe zbadanie zbóż najczęściej uprawianych w Polsce na obecność potencjalnie najbardziej niebezpiecznych związków z tej grupy a więc: aflatoksyny B₁, sterygmatocystyny i ochratoksyny.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Zbadano próbki jęczmienia, pszenicy i żyta pochodzące z różnych województw Polski ze zbiorów 1979 roku. W celu oznaczenia zawartości aflatoksyny B₁ i sterygmatocystyny stosowano półilościową metodę opartą na chromatografii cienkowarstwowej [10].

Ochratoksynę A oznaczano spektrofluorymetrycznie do granicy 15 µg/kg. Poniżej tej wartości stosowano półilościową ocenę na płycie chromatograficznej z granicą wykrywalności 3 µg/kg [2]. W przypadku ekstraktów uzyskanych z niektórych próbek badanych zbóż, kiedy zabarwienie fluorescencji płam substancji balastowych było zbliżone do zabarwienia płam wzorca ochratoksyny, oraz w przypadku gdy wartości R_f wzorca i fluoryzujących płam substancji towarzyszących były podobne, płytkę wysycano parami amoniaku. W warunkach tych

* Praca wykonana w ramach problemu MR-12.

plamy balastów stawały się mniej intensywne, natomiast intensywność fluorescencji plam ochratoksyny ulegała zwiększeniu. Podobną zmianę obserwowano po spryskaniu płytki wodno-alkoholowym roztworem NaHCO_3^* .

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Zbadano 131 próbek zbóż: 44 jęczmienia, 42 pszenicy oraz 45 żyta.

Jak wynika z tabeli I tylko w jednej próbce jęczmienia i pszenicy stwierdzono aflatoksynę B_1 w ilościach 26,4 i 20,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ odpowiednio. W żadnej natomiast próbce żyta nie stwierdzono tej toksyny.

Tabela I. Zawartość aflatoksyny B_1 w badanych zbożach

Zboże	Liczba próbek zbadanych	Liczba próbek zawierających aflatoksynę B_1	Zawartość aflatoksyny B_1 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Jęczmień*	44	1	26,4
Pszenica**	42	1	20,0
Żyto	45	0	—

* woj. przemyskie.

** woj. łomżyńskie

Tabela II. Zawartość sterygmatocystyny w badanych zbożach

Zboże	Liczba próbek zbadanych	Liczba próbek zawierających sterygmatocystynę	Zawartość sterygmatocystyny $\mu\text{g}/\text{kg}$
Jęczmień*	44	1	60,0
Pszenica**	42	3	60,6; 70,0; 80,0
Żyto	45	0	—

* woj. ciechanowskie.

** woj. jeleniogórskie, lubelskie, łomżyńskie

Sterygmatocystyna (Tabela II) występowała w jednej próbce jęczmienia — 60,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i w 3 próbkach pszenicy — 60,0; 70,0; 80,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Nie stwierdzono jej w żadnej z badanych próbek żyta.

Niepokój natomiast budzi znaczna częstotliwość występowania oraz ilości ochratoksyny A w zbożach (Tabela III).

Mykotoksynę tę stwierdzono w 18 próbkach jęczmienia w ilościach od 4,0—200,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Najliczniejszą grupę stanowiły próbki jęczmienia zawierające ochratoksynę A w ilości od >10—30 $\mu\text{g}/\text{kg}$: 10,5 (woj. ciechanowskie), 12,5 (woj. zamojskie), 15,0 (woj. bydgoskie, lubelskie, ostrołęckie, piotrkowskie), 25,0 (woj. lubelskie) i 30,0 (woj. lubelskie).

Drugą dość liczną grupę stanowiły próbki o zawartości ochratoksyny A w granicach ≤ 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$: 4,0 (woj. gdańskie), 6,5 (woj. ciechanowskie), 8,0 (woj. lubelskie), 10,0 (woj. lubelskie, plockie, przemyskie).

Najmniejszą grupę stanowiły próbki w których zawartość ochratoksyny przekraczała 30,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$: 31,0; 37,5 (woj. lubelskie), 200,0 (woj. bielskie).

W przypadku pszenicy ochratoksyna A występowała w 11 próbkach. Jej zawartość wahała się w granicach 3,5—51,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Najliczniejszą grupę stanowiły próbki o zawartości ochratoksyny ≤ 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i >10—30 $\mu\text{g}/\text{kg}$: 3,5 (woj. koszalińskie), 4,0 (woj. jeleniogórskie), 10,0 (woj. bielsko-podlaskie,

* 6g NaHCO_3 czysto rozpuszczano w 100 cm^3 wody i dodawano 20 cm^3 etanolu.

Tabela III. Zawartość ochratoksyny A w zbożach

Zboże	Liczba próbek zbadanych	Liczba próbek zawierających ochratoksynę A	Skrajne wartości $\mu\text{g}/\text{kg}$	Liczba próbek o zawartości ochratoksyny A $\mu\text{g}/\text{kg}$		
				≤ 10	$> 10-30$	> 30
Jęczmień	44	18	4,0—200,0	7	8	3
Pszenica*	42	11	3,5—51,5	5	5	1
Żyto*	45	21	3,5—100,0	6	9	6

* W 1976 r w badaniach 17 próbek pszenicy i 17 próbek żyta stwierdzono odpowiednio w jednej i w pięciu próbkach tych zbóż ochratoksynę A, natomiast w roku 1977 na 21 próbek pszenicy mykotoksynę tę stwierdzono w 2 próbkach (15,0 i 25, $\mu\text{g}/\text{kg}$), a spośród 25 próbek żyta w 8 próbkach (od poniżej 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 24,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$). [2].

gdańskie, konińskie), 12,5 (woj. legnickie, lubelskie), 15,0 (woj. kaliskie, piotrkowskie), 25,0 (woj. tarnowskie).

W grupie powyżej 30,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ znajdowała się 1 próbka pochodząca z woj. olsztyńskiego — 51,5.

W próbkach żyta stwierdzono ochratoksynę A w 21 przypadkach. Jej zawartość mieściła się w granicach 3,5—100,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Najliczniejszą grupę stanowiły próbki znajdujące się w przedziale $> 10-30$ $\mu\text{g}/\text{kg}$: 12,0 (woj. częstochowskie), 12,5 (woj. kaliskie, lubelskie), 15,0 (woj. ostrołęckie, płockie), 20,0 (woj. łódzkie), 25,0 (woj. gdańskie), 28,5 (woj. ciechanowskie) i 30,0 (woj. ostrołęckie).

W pozostałych grupach w przedziale ≤ 10 i $> 30,0$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ zawartość ochratoksyny wynosiła: 3,5 (woj. elbląskie), 5,0 (woj. koszalińskie), 6,0 (woj. koszalińskie), 8,0 (woj. bielskie), 47,2 (woj. ciechanowskie), 50,0 (woj. katowickie), 60,0 (woj. ciechanowskie) 62,5 (woj. olsztyńskie, śląskie), 100,0 (woj. bydgoskie, przemyskie).

Z przedstawionych wyników widać, że częstotliwość występowania ochratoksyny A w jęczmieniu i życie jest niemal 2 razy większa niż w pszenicy. Podobne spostrzeżenia poczynione we wcześniejszej pracy, gdzie stwierdzono, że częstotliwość występowania ochratoksyny A w życie była znacznie wyższa niż w pszenicy [2].

WNIOSKI

1. Aflatoksyna B₁ i sterygmatocystyna występują w zbożach dotychczas sporadycznie.

2. Niepokój budzi natomiast częstsze niż przed 2 i 3 laty występowanie ochratoksyny A w zbożach a zwłaszcza w jęczmieniu i życie. W związku z tym niezbędna jest okresowa kontrola tych zbóż. Mając na uwadze, że przedmiotem badań były zboża konsumpcyjne, należy się liczyć, że w przeznaczonych na cele paszowe zbożach — a więc gorszej jakości, zawartość tej toksyny jak i częstotliwości jej występowania mogą być większe co może być przyczyną spadku oraz strat w hodowli zwierząt.

Л. Червецки

ОБНАРУЖЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЫБРАННЫХ МИКОТОКСИНОВ В ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУРАХ

Резюме

Методом тонкослойной хроматографии в сочетании со спектрофлуориметрическим методом определяли содержание микотоксинов в 131 пробе зерновых

kultur: 44 jęczmienia, 42 pszenicy i 45 rżi, собранных в разных воеводствах в 1979 году.

Афлатоксин B₁ установили в I пробе ячменя и в I пробе пшеницы в количестве 20,0—26,4 мкг/кг.

Стеригматоцистин содержался в I пробе ячменя и в 3 пробах пшеницы в количестве 60,0—80,0 мкг/кг.

Внимания заслуживает факт, что охратоксин А встречается во многих пробах исследуемых зерновых культур. Его наличие установили в 18 пробах ячменя, 11 пробах пшеницы и 21 пробе ржи в количестве 3,5—200 мкг/кг.

L. Czerwiecki

DETECTION AND DETERMINATION OF CERTAIN MYCOTOXINS IN CORN

Summary

Using the method of thin-layer chromatography connected with spectrofluorimetry 131 corn samples were studied, including 44 samples of barley, 42 of wheat and 45 of rye obtained from various provinces of the country in the harvest of 1979.

Aflatoxin B₁ was demonstrated in 1 sample of barley and 1 sample of wheat in amounts of 20.0—26.4 µg/kg.

Sterigmatocystine was present in 1 sample of barley and 3 samples of wheat in amounts of 60.0—80.0 µg/kg.

Of importance was a considerable frequency of ochratoxin A which was found in 18 samples of barley, 11 samples of wheat and 21 samples of rye in amounts 3.5 — 200 µg/kg.

PIŚMIENNICTWO

1. *Carnaghan R.B.A.*: Hepatic tumours and other chronic liver changes in rats following a single oral administration of aflatoxin. *Br. J. Cancer*, 1967, 21, 811. — 2. *Czerwiecki L.*: Wpływ czynników fizykochemicznych na ochratoksynę A oraz oznaczanie jej zawartości w zbożach metodą spektrofotometryczną. Cz. II. Dobór warunków chromatografii cienkowarstwowej, sposobu ekstrakcji ochratoksyny A oraz jej zawartość w zbożach. *Roczn. PZH*, 1981, 32, 301. — 3. *Elling F., Hald B., Jacobsen Ch., Krogh P.*: Spontaneous toxic nephropathy in poultry associated with ochratoxin A. *Acta path. microbiol. Scand. Sec. A.*, 1975, 83, 739. — 4. *Halls N.A., Ayres J.C.*: Potential production of sterigmatocystin on country cured ham. *Appl. Microbiol.*, 1973, 26, 636. — 5. *Juszkiewicz T., Piskorska-Pliszczyńska J.*: Zawartość aflatoksyn E₁, B₂, G₁ i G₂, ochratoksyn A i B, sterygmatocystyny i zearalenonu w śrutach zbożowych. *Med. Wet.*, 1976, 32, 617. — 6. *Juszkiewicz T., Piskorska-Pliszczyńska J.*: Zawartość mykotoksyn w przemysłowych mieszankach i koncentratkach paszowych. *Med. Wet.*, 1977, 33, 193. — 7. *Kiermeier F., Weiss G., Behringer G., Müller M., Ranfft K.*: Vorkommen und Gehalt an Aflatoxin M₁ in Molkerei-Anlieferungsmilch. *Z. Lebensm. Unters. — Forsch.*, 1977, 163, 171. — 8. *Krogh P., Hald B., Pedersen E.J.*: Occurrence of ochratoxin A and citrinin in cereals associated with mycotoxic porcine nephropathy. *Acta Path. Microbiol. Scand. Sec. B*, 1973, 81, 689. — 9. *Lemieszek-Chodorowska K.* i in.: Wstępne badania niektórych produktów zbożowych na obecność aflatoksyny B₁. *Roczn. PZH*, 1969, 20, 173. — 10. *Lemieszek-Chodorowska K.*: Identyfikacja i ilościowe oznaczenie ochratoksyn A i B, sterygmatocystyny oraz aflatoksyny B₁. *Roczn. PZH*, 1976, 27, 153.

11. *Puchlev A.*: Basic problems in endemic nephropathy. In *Puchlev A.*, ed. *Endemic nephropathy, proceedings of the Second International Symposium on Endemic Nephropathy*, Sofia 9—11 November, 1972, Sofia, Publishing House of the Bulgarian Academy of Sciences, 15. — 12. *Rodricks J.V., Stoloff L.*: Food producing animals. In: *Rodricks J.V., Hessel-tine C.W., Mehlman M.A.*, ed. *Mycotoxins in human and animal health*, Park Forest South, I L, USA, Pathotox Publishers Inc. 1977, 67. — 13. *Shotwell O.L., Goulden M.L., Hessel-tine C.W.*: Survey of U.S. wheat for ochratoxin and aflatoxin. *J. AOAC*, 1976, 59, 122. — 14. *Sze-biotko K., Chelkowski J., Goliński P., Godlewska B., Heartle T., Radomyńska W., Wieniów-ska M.*: Investigations on methods of detoxification of food and feed products containing mycotoxins (ochratoxins). First Technical Report Oct., 1, 1975 to sept., 30, 1976. — 15. *Wogan G.N.*: Aflatoxin carcinogenesis. In: *Bush M.*, ed. *Methods in cancer research*. N. York, Academic Press, 1973, 309. — 16. *Wogan G.N., Pagliarunga S., Neuberger P.M.*: Carcinogenic effects of low dietary levels of aflatoxin B₁ in rats. *Fd Cosmet. Toxicol.*, 1974, 12, 681.

Dn. 18 01. 1982 r.

00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24.