

TEODOR JUSZKIEWICZ, ANNA KOZAK, HENRYKA WIŚNIEWSKA-DMYTROW

Skazenie mikotoksynami mieszanek paszowych i koncentratów w Polsce

Zakład Farmakologii i Toksykologii Instytutu Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Summary

Contamination with mycotoxins of mixed feeds and concentrates in Poland

A total number of 208 samples of mixed feeds for poultry, swine, cattle and sheep, and 36 samples of concentrates were received in 1991 from feed mills located over the territory of Poland. In collected samples concentrations of aflatoxins B₁, B₂, G₁, G₂, ochratoxins A and B, sterigmatocystin and zearalenone were analysed. The presence of ochratoxin A (OA) was confirmed in above 9% of the mixed feeds in the range of 2.5–120 µg/kg. The lowest percentage of samples contaminated with mycotoxins was found in poultry mixed feeds and the highest one in swine mixed feeds. Neither presence of aflatoxins, nor sterigmatocystin or zearalenone was detected in the samples of mixed feeds. Whereas in concentrates aflatoxin B₁ and ochratoxin A were found in 5.5% of samples (mean 40 µg/kg) and 13.8% of samples (mean 198 µg/kg) respectively. Zearalenone was detected only in the one sample of examined concentrates in concentration 1600 µg/kg.

plam obserwowano w świetle lampy kwarcowej przy dwu długościach fal: 366 i 254 nm. Zmiana barwy i natężenia fluorescencji plam ułatwia odróżnienie mikotoksyn od towarzyszących im zanieczyszczeń.

Zastosowane metody pozwalały oznaczyć 1 µg/kg aflatoksyn B₁, B₂, G₁, G₂, 10 µg ochratoxyn A i B, 30 µg sterygmatocystyny i 50 µg zearalenonu w 1 kg mieszanki lub koncentratu.

Wyniki i omówienie

Do analizy obecności mikotoksyn otrzymano łącznie 244 próbki mieszanek paszowych i koncentratów. Spośród tej liczby 208 próbek stanowiły mieszanki paszowe (154 dla drobiu, 50 dla trzody chlewnej i 4 dla bydła i owiec), zaś 36 próbek koncentraty (7 próbek koncentratów dla drobiu, 25 dla trzody chlewnej i 4 dla bydła i owiec). Wyniki analiz przedstawiono w tabelach 2–5.

Mieszanki paszowe. Podobnie jak to stwierdzono w badaniach wcześniejszych (2, 3, 4) we wstępnej analizie wieloskładnikowej w znacznej liczbie próbek stwierdzono na chromatogramach fluorujące plamy, które wyglądem i wartościami R_f odpowiadały oznaczanym mikotoksynom (tab. 2). Po wykonaniu testów chemicznych z tworzeniem pochodnych nie potwierdzono obecności mikotoksyn w większości podejrzanych próbek. W konsekwencji, w żadnej z 208 badanych próbek mieszanek paszowych nie wykazano obecności aflatoksyn, sterygmatocystyny i zearalenonu mimo tego, iż na podstawie wstępnej analizy mieszanek paszowych metodą wieloskładnikową można było podejrzewać w ponad 17% próbek obecność aflatoksyn, 36% ochratoxyn, 15% sterygmatocystyny i 11% zearalenonu. Stwierdzono tylko ochratoxynę A (OA) w 9,6% mieszanek w stężeniach od 2,5 do 120 µg w 1 kg, ze średnią zawartością 44,6 µg/kg (tab. 3).

Najmniej skażone okazały się mieszanki paszowe dla drobiu. Jedynie w 12 (7,8%) spośród 154 badanych próbek tych mieszanek stwierdzono obecność OA w zakresie stężeń od 2,5 do 85 µg/kg przy wartości średniej 27,8 µg/kg. Najbardziej zanieczyszczone OA były mieszanki L i PT przeznaczone dla trzody chlewnej. Spośród 50 analizowanych mieszanek 7 próbek (14%) za-

Mikotoksyny przedostają się do organizmu zwierząt wraz ze skażonymi paszami lub ich komponentami. Następnie mogą przenikać do tkanek i narządów, a w konsekwencji do żywności zwierzęcego pochodzenia tj. mięsa, mleka i jaj. Szczególne znaczenie patogenne posiadają stwierdzone w koncentraty, paszach lub ich komponentach aflatoksyny, ochratoxyny, sterygmatocystyna i zearalenon. Problem skażenia mikotoksynami żywności i pasz w naszym kraju jest ciągle aktualny, gdyż istnieją sprzyjające warunki klimatyczne dla wzrostu i rozwoju pleśni.

Z powyższych względów w Zakładzie Farmakologii i Toksykologii IWet. przeprowadzono ponownie badania mające na celu określenie stopnia skażenia mieszanek paszowych i koncentratów białkowych mikotoksynami. Podobne badania, w których analizowano śruty zbożowe, mieszanki przemysłowe i koncentraty paszowe, wykonano w latach 1975–1979 (1–4).

Materiał i metody

Dzięki uprzejmej pomocy Spółki „Bacutil” i Centralnego Laboratorium Przemysłu Paszowego z 25 wytwórni pasz rozmieszczonych na terenie całego kraju (tab. 1) otrzymano próbki mieszanek paszowych i koncentratów dla drobiu, trzody chlewnej, bydła i owiec. Wyprodukowane w kwietniu i maju 1991 r. pasze i koncentraty (po 2 próbki z każdej nowej partii produkcji) pobierane były przez przysięgłych próbobiorców. Probki zaopatrzone w informacje dotyczące rodzaju mieszanki, daty produkcji, sposobu pobrania, rozmiaru partii i rodzaju opakowania gromadzono w Zakładzie do czasu rozpoczęcia badań.

We wszystkich próbkach pasz i koncentratów oznaczano aflatoksyny B₁, B₂, G₁, G₂, ochratoxyny A i B, sterygmatocystynę i zearalenon metodą chromatografii cienkowarstwowej (TLC), opracowaną przez Stoloffa i wsp. (7) w modyfikacji Zakładu Farmakologii i Toksykologii IWet (5, 6). Metoda pozwala na równoczesne wyekstrahowanie i oznaczenie wyżej wymienionych związków. Dodatkowo próbki analizowano metodami specyficznymi z zastosowaniem chemicznych testów potwierdzających (5, 6). Tożsamość aflatoksyn potwierdzano dodatkowo tworząc pochodną z kwasem trójfluoroctowym, ochratoxyn z metanolowym roztworem trójfluorku boru, zaś sterygmatocystyny z pirydyną w obecności bezwodnika kwasu octowego. Fluorescencję

Tab. 1. Zestawienie badanych próbek mieszanek i koncentratów paszowych

Rodzaj pasz	Liczba badanych pasz	
	mieszanki	koncentraty
DKM-1, 2, DKA-F, G, S (kurczęta)	102	1
DJ-1, DJ-R (kury niośki)	23	6
KB-1, 2, 3 (kaczęta)	10	—
IB-1, 2, 3, IHN (indyki)	19	—
PP-prestarter, PP-grower, PW, R-237, Grower R-233, Finisz R-239 (prosięta)	19	—
T-2, PT-1, 2 (tuczniaki)	17	12
L, LP (lchy)	14	13
C-J (cielęta i jagnięta)	2	3
B (bydło i owce)	1	1
SOMB (buhaje)	1	—
Razem	208	36

Tab. 2. Wyniki analizy mikotoksyn w próbkach mieszanek paszowych

Pasza	Liczba próbek badanych	Aflatoksyny		Ochratoksyny		Sterygmatocystyna		Zearalenon	
		F	C	F	C	F	C	F	C
Dla drobiu	154	23	0	51	12	20	0	12	0
Dla trzody chlewnej	50	12	0	20	7	8	0	11	0
Dla bydła i owiec	4	2	0	3	1	3	0	1	0
Razem	208	37	0	74	20	31	0	24	0
%	100	17,8	0	35,6	9,6	14,9	0	11,5	0

Objaśnienia: F — liczba próbek fluoryzujących, C — liczba próbek potwierdzonych.

Tab. 3. Występowanie ochratoksyny A w analizowanych próbkach mieszanek paszowych

Pasza	Próbki		Stężenie, $\mu\text{g}/\text{kg}$	
	analizowane	skażone %	min.—maks.	średnia
Dla drobiu	154	7,8	2,5—85,0	27,8
Dla trzody chlewnej	50	14,0	50,0—120,0	76,9
Dla bydła i owiec	4	25,0	20,0	20,0

próbkach (46%) stwierdzono OA w stężeniach 120 i 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$. W jednej próbce koncentratu KPT (na 7 przebadanych) obecna była OA w stężeniu 280 $\mu\text{g}/\text{kg}$. OA stwierdzono również w 1 próbce koncentratu KCJ (dla cieląt i jagniąt) w stężeniu 130 $\mu\text{g}/\text{kg}$. W próbce tej wykazano również obecność zearalenonu w stężeniu 1600 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Z przedstawionych badań wynika, że w mieszankach paszowych produkowanych w 1991 r. przez większość wytwórni w Polsce nie stwierdzono obecności aflatoksyn, sterygmatocystyny i zearalenonu. Sterygmatocystyny

Tab. 4. Wyniki analizy mikotoksyn w próbkach koncentratów paszowych

Koncentrat	Liczba próbek badanych	Aflatoksyny		Ochratoksyny		Sterygmatocystyna		Zearalenon	
		F	C	F	C	F	C	F	C
Dla drobiu	7	6	1	3	1	5	0	5	0
Dla trzody chlewnej	25	13	1	16	3	10	0	16	0
Dla bydła i owiec	4	2	0	1	1	1	0	1	1
Razem	36	21	2	20	5	16	0	22	1
%	100	58,0	5,5	55,5	13,8	44,3	0	61,1	2,8

Objaśnienia: F — liczba próbek fluoryzujących, C — liczba próbek potwierdzonych.

Tab. 5. Zawartość mikotoksyn w analizowanych próbkach koncentratów

Mikotoksyna	% próbek skażonych	Stężenie, $\mu\text{g}/\text{kg}$	
		min.—maks.	średnia
Aflatoksyna B ₁	5,5	30—50	40
Ochratoksyna A	13,8	120—280	198
Sterygmatocystyna	0	0	0
Zearalenon	2,8	1600	1600

wierało OA w stężeniach od 50 do 120 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Z 4 przebadanych pasz dla bydła i owiec tylko w jednej próbce (mieszanka CJ) stwierdzono OA w stężeniu 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (tab. 3).

Koncentraty paszowe. Przebadano 36 próbek koncentratów paszowych. Podobnie jak w analizie mieszanek paszowych również w koncentratkach paszowych, w znacznej liczbie próbek uznanych na podstawie wstępnej analizy za dodatnie, nie potwierdzono w dalszej analizie obecności mikotoksyn (tab. 4). Aflatoksynę B₁ stwierdzono w 2 próbkach (5,5%), OA w 5 próbkach (13,8%) i w 1 próbce (2,8%) zearalenon. W żadnej próbce koncentratu nie stwierdzono sterygmatocystyny (tab. 5). Aflatoksynę B₁ zawierał koncentrat dla drobiu KDJ i dla trzody chlewnej KL w stężeniach odpowiednio 30 i 50 μg w 1 kg. Najbardziej skażone OA okazały się koncentraty KLP służące do sporządzania pełnoporcjowych mieszanek dla loch prośnych. W 2

cystyny nie znaleziono również w próbkach koncentratów paszowych. Natomiast w niewielkim odsetku koncentratów paszowych można było wykazać obecność niskich stężeń aflatoksyn, ochratoksyn i zearalenonu. Największa liczba próbek, bo ponad 9% mieszanek i prawie 14% koncentratów paszowych zawierało OA. Stwierdzone stężenia ochratoksyn w mieszankach paszowych (50—120 $\mu\text{g}/\text{kg}$) były niskie i nie stanowiły zagrożenia toksykologicznego dla zwierząt. Potwierdzają to również analizy koncentratów paszowych (tab. 5). Przedstawione w tej pracy wyniki do pewnego stopnia pokrywają się z cytowanymi wyżej wynikami badań naszych z lat wcześniejszych. W porównaniu z badaniami wcześniejszymi (1975—1979) stwierdzono procentowy wzrost liczby próbek mieszanek paszowych skażonych OA. Zmniejszył się natomiast odsetek koncentratów białkowych zawierających aflatoksynę B₁. W pracach poprzednich (1, 2) zwrócono także uwagę na możliwość popełniania błędów analitycznych przy wykrywaniu mikotoksyn w paszach na skutek występowania na chromatogramach plam fluoryzujących podobnie jak mikotoksyny i o zbliżonych do nich wartościach R_f. Potwierdziło się to w całej rozciągłości również w tej pracy. Można z dużym prawdopodobieństwem sądzić, że stwierdzenie za pomocą chromatografii cienkowarstwowej fluorescencji plam (przy R_f odpowiadającym wzorcom) pozwala podejrzewać obec-

ność mikotoksyn w ekstrakcie z badanej paszy, ale bez uzupełniających, specyficznych reakcji potwierdzających nie upoważnia do twierdzenia, iż pasza zawiera mikotoksyny.

Piśmiennictwo

1. Juskiewicz T., Piskorska-Pliszczyńska J.: *Medycyna Wet.* 32, 617, 1976.

2. Juskiewicz T., Piskorska-Pliszczyńska J.: *Medycyna Wet.* 33, 193, 1977.
 3. Juskiewicz T., Piskorska-Pliszczyńska J.: *Ann. Nutr. Alim.* 31, 189, 1977.
 4. Juskiewicz T., Piskorska-Pliszczyńska J.: *Bull. vet. Inst. Pulawy* 27, 72, 1984.
 5. Piskorska-Pliszczyńska J., Juskiewicz T.: *Arch. l'Institut Pasteur de Tunis* 54, 279, 1977.
 6. Piskorska-Pliszczyńska J., Żuk M.: *Medycyna Wet.* 35, 302, 1979.
 7. Stoloff L. i wsp.: *J. Ass. Off. Anal. Chem.* 54, 11, 1971.

Adres autora: prof. dr hab. Teodor Juskiewicz, ul. Kaniowczyków 6 m 3, 24-100 Puławy

JANUSZ ZIPSER, HENRYK KRACZKOWSKI

Zawartość kadmu, miedzi, cynku oraz metalotioneiny w nerkach i wątrobie koni i krów z różnych rejonów ziem wschodnich Polski

Zakład Biochemii Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Lubartowska 58, 20-123 Lublin

Summary

The content of Cd, Cu, Zn and metallothioneine in kidneys and livers of horses and cattle from different regions of the eastern part of Poland

The content of Cd, Cu, Zn and metallothioneine in the kidneys and livers of horses and cattle, coming from the Biała Podlaska, Chełm, Lublin and Zamość districts, was determined. The concentrations of the metals in the tissues were determined by absorptive atomic spectrophotometry (ASA). The content of metallothioneine (MT) in livers and kidneys was measured by the radiometric method introduced by Piotrowski. In the tissues under study the rate of Cd, Zn or Cu over quota was not discovered. An increased content of Cd was found only in the liver and kidneys of cattle from the Lublin territory.

Kadm należy do tych pierwiastków, które podlegają stałej kumulacji w tkankach zwierzęcych. Ruchliwość tego metalu w organizmach jest tak niewielka, że wyznaczone okresy biologicznego półtrwania przekraczają często czas życia osobników danego gatunku (16). Tak więc nawet w środowisku o słabym stopniu skażenia kadmem może wystąpić zatrucie, a jego rozpoznanie może być trudne z uwagi na brak swoistych objawów (10).

Kadm wykazuje zdolność włączania się do przemian metabolicznych innych pierwiastków niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania enzymów. Interferuje z takimi metalami jak: cynk, miedź, selen, żelazo oraz wapń (9, 12, 21), a zaburzając dodatkowo proces syntezy witaminy D₃ — zmniejsza stopień mineralizacji kości (1).

Ostre zatrucia kadmem występują rzadko i spowodowane są głównie drastycznym lekceważeniem przepisów BHP. Częściej natomiast pojawiają się schorzenia wywołane długotrwałym oddziaływaniem tego metalu na organizm. Następstwem chronicznego zatrucia kadmem są uszkodzenia nerek, wątroby, jąder, odwapnienia kości, niedokrwistość, chorobowe nadciśnienie oraz powikłania ciąży (26).

Miedź występuje we wszystkich tkankach organizmu, zwłaszcza dużo jest jej w wątrobie, nerkach oraz mięśniu sercowym (3). Istotną rolę miedzi wiąże się z jej udziałem w procesach redukcyjno-oksydacyjnych. Miedź jest integralnym składnikiem wielu oksydaz, w tym oksydazy cytochromowej końcowego enzymu łań-

cucha oddechowego. W komórkach zwierząt miedź koncentruje się głównie w mitochondriach oraz w jądrze komórkowym, gdzie może tworzyć trwałe połączenie z kwasem nukleinowym, wywołując zmiany w jego strukturze (2). Zapotrzebowanie na miedź jest zróżnicowane zarówno w zależności od samego gatunku zwierzęcia, jak i od jego stadium rozwojowego, a także od stężenia w diecie takich pierwiastków, jak: cynk, molibden i kadm (13). Niedobór miedzi powoduje niedokrwistość, zahamowanie wzrostu oraz zaburzenia rozwoju tkanki łącznej (8). Wiele gatunków wykazuje znaczną tolerancję na miedź, niemniej nadmiar jonów tego metalu w diecie może wywołać objawy zatrucia. Miedź nagromadzona w nadmiarze w wątrobie i nerkach zaburza prawidłowe funkcjonowanie tych narządów, a ponad fizjologiczne stężenia tego metalu w mięśniu sercowym doprowadzają do uszkodzeń naczyń wieńcowych (14).

Cynk występujący w organizmach wchodzi w skład wielu metaloenzymów: anhidrazy węglanowej, dehydrogenaz, proteaz, fosfataz (4, 20). Pobieranie cynku przez organizmy ssaków poddane jest regulacji, a więc stopień wchłonięcia tego pierwiastka w przewodzie pokarmowym nie jest wprost proporcjonalny do jego stężenia w żywności. Duże stężenie cynku w pożywieniu niszczy jednak ten biochemiczny układ kontrolny i cynk patologicznie odkłada się w narządach i tkankach (22). Uszkodzenia wywołane cynkiem dotyczą głównie wątroby, nerek oraz gruczołów płciowych (15). Cynk jest metalem o stosunkowo niskiej toksyczności, niemniej stężenia powyżej 100 ppm w paszy dają objawy chorobowe (25). Ostre zatrucie cynkiem wywołuje niedokrwistość i ogólne osłabienie (24). Następstwem zatrucia chronicznego jest drastyczne obniżenie poziomu miedzi w organizmie, a zatem obserwowane objawy chorobowe spowodowane są głównie deficytem miedzi w tkankach (5). Z obserwacji wynika, że dla prawidłowego funkcjonowania organizmu konieczne jest zachowanie właściwych proporcji pomiędzy stężeniami cynku i miedzi (23).

Kumulacja kadmu, cynku oraz miedzi w wątrobie i nerkach wywołana jest obecnością niskocząsteczkowego białka cytoplazmatycznego wiążącego te metale, a zwanego metalotioneiną (MT). Metalotioneina została odkryta w nerkach końskich w 1957 r. przez Margosha i Valle (13). Z dotychczasowych badań wynika, że białko to u ssaków posiada masę cząsteczkową ok.