

14. Chemineau P., Malpaux B., Delgadillo J. A., Guerin Y., Ravault J. P., Thimonier J., Pelletier J.: Anim. Reprod. Sci. 30, 157, 1992.
15. Colas G.: Proc. 9th Int. Congr. Anim. Reprod. A, I., Madrid, 2, 287, 1980.
16. Delgadillo J. A., Leboeuf B., Chemineau P.: Theriogenology 36, 5, 755, 1991.
17. D'Occhio M. J., Suttie J. M.: Anim. Reprod. Sci. 30, 135, 1992.
18. Ebling F. J. P., Foster D. L.: Experientia 45, 946, 1989.
19. Ebling F. J. P., Lincoln G. A., Wollnik F., Anderson N.: J. Biol. Rhythms, 3, 4, 365, 1988.
20. Fiser P. S., Fairfull R. W.: Cryobiology 20, 684, 1983.
21. Fitzgerald J. A., Stellflug J. N.: J. Anim. Sci. 69, 264, 1991.
22. Folch J.: The male in farm animal reproduction., A Seminar in the EEC Programme of Coordination of Research on Animal Production, s. 141, 1983.
23. Glass J. D.: Pineal Res. Rev. 6, 219, 1988.
24. Gonzales R., Orgeur P., Signoret J. P.: Theriogenology 30, 6, 1075, 1988.
25. Hansen P. J.: Anim. Reprod. Sci. 9, 301, 1985.
26. Hochereau-de-Reviere M. T., Perreau C., Pisselet C., Pelletier J.: Microscopy Research and Technique 20, 268, 1992.
27. Jennings J. J.: Proc. VIIIth Int. Cong. Anim. Reprod. A, I., Kraków, 4, 998, 1976.
28. Karasek M., Reiter R. J.: Adv. Pineal Res. 4, 17, 1990.
29. Karp J. D., Hastings M. H., Powers J. B.: Pineal Res. 10, 210, 1991.
30. Kastyak L.: Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. z. 124, 165, 1971.
31. Langford G. A., Shrestha J. N. B., Marcus G. J.: Anim. Reprod. Sci. 19, 19, 1989.
32. Lincoln G. A.: J. Reprod. Fert. 90, 285, 1990.
33. Lincoln G. A.: Proc. 11th Int. Congr. Anim. Reprod. A, I., Dublin 5, 10, 1988.
34. Lincoln G. A.: Hormonal control of reproduction. The pineal gland, w: Reproduction in Mammals t. 3, wyd. Cambridge University Press s. 52, 1984.
35. Lincoln G. A., Lincoln C. E., McNeilly A. S.: J. Reprod. Fert. 88, 623, 1990.
36. Mann T., Luttwak-Mann C.: Male reproductive function and semen. Springer-Verlag, Berlin 1981.
37. Murray P. J., Rowe J. B., Pethick D. W., Adams N. R.: Aust. J. Agric. Res. 41, 185, 1990.
38. Ortavant R., Bocquier F., Pelletier J., Ravault J. P., Thimonier Volland-Nail P.: Aust. J. Biol. Sci. 41, 69, 1988.
39. Pelletier J., Ravault J. P.: Neuroendocrinol. Lett. 10, 5, 329, 1988.
40. Pugh P. A., Fukui Y., Tervit H. R., Thompson J. G.: Theriogenology 36, 5, 771, 1991.
41. Querioz G. F., Cardoso F. M.: J. Vet. Med. A. 34, 657, 1987.
42. Reiter R. J.: Am. J. Anat. 162, 287, 1981.
43. Reiter J. R., Trakulrunsi W. K., Trakulrunsi C., Vriend J., Morgan W. W., Kaughan M.K., Johnson L.Y., Richardson B.A.: Melatonin Rhythm Generating System, Int. Symp., Bethesda, Md., s. 143, 1982.
44. Sanford L. M., Baker S. J.: Acta Endocrinol. 122, 1, 56, 1990.
45. Simpson A. M., Suttie J. M., Kay R. N. B.: Anim. Reprod. Sci. 6, 291, 1984.
46. Slyter A. L., Rogen R. D., Schanbacher B. D.: Theriogenology 25, 4, 609, 1986.
47. Tekpetey F. F., Amann R. P.: Biol. Reprod. 38, 1051, 1988.
48. Thwaites C. J., Hannan G. D.: Anim. Reprod. Sci. 19, 29, 1989.
49. Udała J., Boryczko Z., Ordysińska L., Łopuszko B.: Medycyna Wet. 46, 403, 1990.
50. Wayne N. L., Malpaux B., Karsch F. J.: Biol. Reprod. 39, 66, 1988.
51. Webster J. R., Moenter S. M., Barrel G. K., Lehman M. N., Karsch F.J.: Endocrinology 129, 3, 1635, 1991.
52. Webster J. R., Suttie J. M., Veenvliet B. A., Manley T. R., Littlejohn R. P.: J. Reprod. Fert. 92, 21, 1991.
53. Wood R. I., Ebling F. J. P., I'Anson H., Foster D. L.: Biol. Reprod. 45, 82, 1991.
54. Xu Z. Z., McDonald M. F., McCutcheon S. N., Blair H. T.: Reprod. Sci. 31, 99, 1993.

Adres autora: dr Krzysztof Borkowski, ul. Pana Tadeusza 20/56, 10-718 Olsztyn

JACEK DOMAGAŁA, JAN KISZA*

artykuł przeglądowy

Sterigmatocystyna jako prekursor aflatoksyn w paszach i mleku

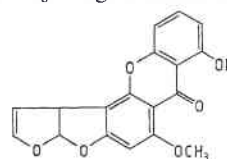
Katedra Przetwórstwa Produktów Zwierzęcych, Wydział Rolniczy AR, Al. 29-Listopada 52, 31-425 Kraków
*Instytut Technologii Mleczarskiej, Wydział Technologii Żywności ART, Blok 35, 10-718 Olsztyn – Kortowo

Spośród znanych obecnie około 130 mikotoksyn kilka jest szczególnie toksycznych, wykazujących działanie rakotwórcze. Do takich właśnie należy też sterigmatocystyna (STC). Pleśnie produkujące sterigmatocystynę występują powszechnie w przyrodzie. Stanowiąc to może zagrożenie dla zdrowia publicznego ze względu na ryzyko zakażenia tymi pleśniami, a tym samym i toksyną żywności i pasz. Stąd też zwiększone zainteresowanie badaczy tym związkiem, jego występowaniem w żywności i paszach, metodami oznaczania oraz rolą tego związku w biosyntezie aflatoksyn.

Struktura chemiczna, właściwości, występowanie, biosynteza

Sterigmatocystyna została po raz pierwszy wyizolowana z grzybnia *Aspergillus versicolor* w 1954 r. przez Hatsuda i wsp., a w 8 lat później Bullock i wsp. określili jej strukturę chemiczną (ryc. 1) (2, 21). Długo czas w badaniach nad mikotoksynami główną uwagę poświęcano aflatoksynom, odkąd

jednak zostało dowiedzione rakotwórcze działanie sterigmatocystyny – zyskała na znaczeniu. Podobnie jak aflatoksyny STC jest pochodną dwufuranową o wzorze sumarycznym $C_{18}H_{12}O_6$ i masie cząsteczkowej 324,3. Jest to substancja silnie lewoskrętna, krystalizująca w formie białozółtych igiełek, których temperatura topnienia wynosi 246°C. Jest nierozpuszczalna w wodzie i eterze naftowym, słabo rozpuszczalna w eterze etylowym, etanolu i metanolu oraz dobrze rozpuszczalna w chloroformie, pirydynie, acetonitrylu i cykloheksanie (2, 15, 26, 28). W świetle UV przy $\lambda = 366$ nm sterigmatocystyna wykazuje ceglasczerwoną fluorescencję. Z etanolowym roz-



Ryc. 1. Struktura chemiczna sterigmatocystyny

tworem chlorku glinu tworzy na płytkach chromatografii cienkowarstwowej kompleks glinowy, wykazujący w świetle UV żółtą fluorescencję z maksimum przy około 380 nm (11, 26, 28).

Sterigmatocystyna wykazuje działanie toksyczne, rakotwórcze i mutageniczne (2, 22). Rzeczywista toksyczność STC różni się w zależności od sposobu przyjmowania, rodzaju zwierzęcia i innych czynników. Dawka LD₅₀ waha się od 32 mg/kg masy ciała mały, 60 – 166 mg/kg u samców szczurów, aż do 800 mg/kg u myszy. Większe niebezpieczeństwo istnieje, gdy jest wstrzykiwana niż dostarczana z pokarmem, co sugeruje, że jest absorbowana z trudnością. Symptomy chronicznego zatrucia sterigmatocystyną to rak wątroby u szczurów, nowotwór płuc u myszy, uszkodzenia nerek i widoczne zmiany w wątrobie i nerkach afrykańskich małych zielonych. Inne zanotowane objawy to martwica mięśnia sercowego, zmiany w metabolizmie kwasów nukleinowych, utrata chromatyny z jąder komórkowych, postępująca degradacja komórkowa z towarzyszącą fragmentacją jąder (2, 9). Rakotwórcza dawka STC dla szczurów jest około 1000 razy wyższa niż dawka aflatoksyny B₁ (AFB₁) dla tego samego zwierzęcia. Jednakże ilość sterigmatocystyny produkowanej przez *A. versicolor* jest generalnie znacznie większa niż ilość AFB₁ produkowanej przez *A. flavus* (2, 28). STC wykazuje również toksyczne działanie wobec bakterii drożdży i pleśni (2).

Głównym producentem STC jest *A. versicolor*. Może on produkować 8 g STC/kg mąki kukurydzianej lub 1,3 mg STC/g grzybni (9). Toksynę tę produkować mogą także inne pleśnie z rodzaju *Aspergillus*, takie jak: *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. nidulans*, *A. rugulosis*, *A. amstelodami*, *A. aurantio-brunneus*, *A. quadrilineatus*, *A. ustus*, *A. sydovi*, *A. ruber*, *A. chewalieri*, *A. glaukus*, *A. bipolaris*, a także inne rodzaje pleśni, jak *Chaetomium thielarioideum* i *C. udagawae* oraz *Monocilium nordinnii* (2, 9, 29). Oprócz STC niektóre z tych szczepów mogą produkować też związki pokrewne, takie jak: O-metylosterigmatocystyna, aspertoksin, dwuhydro-O-metylosterigmatocystyna (*A. flavus*) oraz 5-metoksy-sterigmatocystyna, dwuhydrosterigmatocystyna, dwuhydrometylosterigmatocystyna i sterigmatyna (*A. versicolor*) (2).

A. versicolor jest pleśnią powszechnie występującą w przyrodzie. Jej obecność została stwierdzona w ziarnach zbóż, mące, chlebie, suszonych owocach, serze, ryżu, jagodach, konfiturach i produktach mięsnych. STC oznaczono jako naturalne zanieczyszczenie ziarna pszenicy, jęczmienia, ryżu oraz zielonego i palonego ziarna kawy (9, 22).

Paul i Thurm (19, 26) opisali badania, w których różne produkty żywnościowe zaszczepiano zarodnikami pleśni *A. versicolor* i obserwowano powstawanie STC. Po inkubacji w naturalnych warunkach obecność STC stwierdzono w plasterkach szynki w ilości 4-20 µg na próbkę, w chlebie w ilości 0,02 – 0,4 µg/g oraz na osłonkach dojrzałego salami w ilości 1-2 mg/kg. Dobrym podłożem okazał się też sok winogronowy, w którym stwierdzono 66 µg/dm³. Badania 142 próbek żywności pochodzenia roślinnego (owoców, warzyw, soków) na spontaniczne, naturalne występowanie toksyny przyniosły negatywne rezultaty.

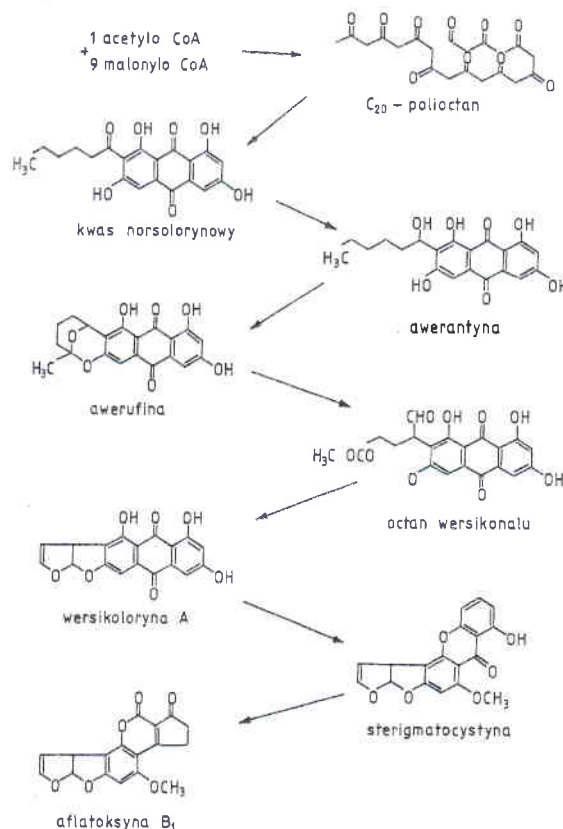
Versonder i wsp. (28) w 1985 r. opisali występowanie STC w paszy dla bydła mlecznego w USA. Toksyna występowała w ilości 7,7 µg/g paszy i była przyczyną chorób, a nawet śmierci bydła mlecznego. Z paszy tej wyizolowano 9 szczepów *A. versicolor*, które były zdolne do produkcji STC w ilości 13 – 89 µg/g rozdrobnionego ziarna zbóż. Była to pierwsza informacja na temat występowania STC w paszy dla bydła mlecznego w USA.

Lepom i wsp. (15, 16) przebadali 69 próbek siana i słomy na obecność szczepów *A. versicolor*. 14,5% próbek było zakażonych tą pleśnią. Wyizolowano 19 szczepów *A. versico-*

lor, z których wszystkie produkowały STC. Ponad połowa szczepów produkowała więcej niż 500 mg STC/kg rozdrobnionego ziarna zbóż. Sugeruje to, że zboże jest dobrym substratem do produkcji sterigmatocystyny. Zaszczepienie próbki siana o wilgotności 20% wysokotoksynotwórczym szczepem *A. versicolor* i inkubacja 4 miesiące w temperaturze pokojowej i wilgotności względnej powietrza 86,5% spowodowało powstanie toksyny w ilości 0,89 mg/kg.

Juszkiewicz i wsp. (14) prowadzili badania 208 próbek mieszanek paszowych oraz 36 próbek koncentratów paszowych pochodzących z krajowych wytwórni pasz. Żadna z badanych próbek nie była zanieczyszczona sterigmatocystyną.

Badania przebiegu biosyntezy aflatoksyn wykazały, że STC jest prekursorem aflatoksyny B₁. Ich droga biosyntezy jest identyczna. Rozpoczyna się ona kondensacją jednej cząsteczki acetylo koenzymu A (acetylo CoA) i dziewięciu cząsteczek malonylo koenzymu A (malonylo CoA) do 20-węglowego (C₂₀) polioktanu, który jako niestabilny produkt pośredni po cyklizacji przez kwas norsolorynowy przekształcany jest do awerantyny i awerufiny. Ta z kolei poprzez octan wersikonalu przechodzi w wersikolorynę A. Z substancji tej powstaje sterigmatocystyna, która może być przekształcana do AFB₁ (2, 5, 15). Schemat biosyntezy STC i AFB₁ przedstawiony jest na ryc. 2 (2).



Ryc. 2. Schemat biosyntezy sterigmatocystyny i aflatoksyny B₁

Konwersja STC do aflatoksyn

Zagadnienie konwersji STC do aflatoksyn było szczegółowo badane i stopniowo wyjaśniane przez Singha i wsp. (23), Jeenaha i wsp. (13), Bhatnagara i Clevelanda (3, 4, 5, 6, 8), Mashaly'ego i wsp. (17) oraz Yabe i wsp. (29).

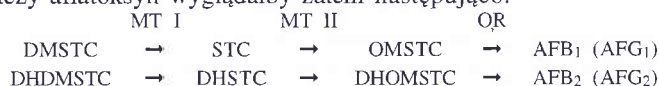
Singh i Hsieh (23) odkryli, że ekstrakt komórkowy pewnego szczepu *A. parasiticus*, wyrosłego na podłożu syntetycznym przekształcał sterigmatocystynę oznaczoną węglem ¹⁴C do aflatoksyny B₁ w obecności NADPH. Konwersja za-

chodziła gwałtownie przez 25-30 min. przy optymalnym pH 7,5 – 7,8 w temp. 27°C. Usunięcie NADPH ze środowiska wywoływało zmniejszenie zakresu konwersji o około 60%. Rola NADPH w przedstawionej reakcji sugeruje, że konwersja zachodzi wg reakcji redox, a enzymem katalizującym reakcję jest najprawdopodobniej oksigenaza. Bazując na tych odkryciach Mashaly i wsp. (17) dokonali izolacji, oczyszczenia i próby charakterystyki enzymów odpowiedzialnych za konwersję STC do AFB₁. Izolacji dokonano z ekstraktu komórkowego i miazgi grzybni szczepu *A. flavus*. Autorzy ci dowiedli, że reakcja jest katalizowana przez enzymy, bowiem ani ekstrakt komórkowy, ani miazga grzybni poddane zagotowaniu nie powodowały konwersji STC do AFB₁.

Badania Jeenaha i Duttona (13) wykazały, że ekstrakt komórkowy szczepu *A. parasiticus* może przekształcać sterigmatocystynę do dwóch różnych produktów: aflatoksyny B₁ i O-metylosterigmatocystyny (OMSTC). Zasugerowali oni, że podobieństwo warunków rozdzielów chromatograficznych tych dwóch metabolitów może powodować mylną konkluzję co do drogi biosyntezy AFB₁. O-metylosterigmatocystyna jest wtórnym metabolitem pleśniowym, który został wyizolowany z aflatoksynotwórczego szczepu *A. flavus*, jak również ze szczepów *Cheatomium*, *Fusarium* i *Monicilium* (5). Początkowo uważano, że O-metylosterigmatocystyna jest metabolitem ubocznym na drodze biosyntezy aflatoksyn. Jednakże prace Jeenaha i Duttona (13) oraz wyniki uzyskane przez Bhatnagara (5) sugerują, że OMSTC jest rzeczywistym metabolitem w procesie biosyntezy aflatoksyn w przemianie sterigmatocystyny do AFB₁ lub AFG₁.

Znacznym postępowaniem w wyjaśnieniu mechanizmu konwersji STC do AFB₁ były obszerne badania Bhatnagara i Clevelanda (3, 4, 5, 6, 8). Z badań tych wynika, że za konwersję STC do AFB₁ odpowiedzialne są dwa enzymy. W ekstrakcie komórkowym szczepu *A. parasiticus* odkryli oni związaną z frakcją postmikrosomalną metylotransferazę (MT), katalizującą konwersję STC do OMSTC, oraz oksydoreduktazę (OR) przekształcającą OMSTC do AFB₁. Oksydoreduktaza związana była z frakcją mikrosomalną ekstraktu komórek grzybni. Mieszanka frakcji mikrosomalnej i postmikrosomalnej powodowała przemianę STC do AFB₁. Jak wykazano, aktywność metylotransferazy jest stymulowana przez S-adenozylometioninę, natomiast oksydoreduktaza wymaga do swojej aktywności obecności NADPH. Optymalne warunki reakcji katalizowanej przez metylotransferazę do pH 7,5-8,5 i temp. 25-35°C, a dla reakcji katalizowanej przez oksydoreduktazę pH 7,0 i temp. 17-23°C. Bhatnagar i wsp. (6) oczyścili i scharakteryzowali metylotransferazę odpowiedzialną za konwersję STC do OMSTC. Oczyszczenie przeprowadzono metodą filtracji żelowej. Przybliżona masa cząsteczkowa natywnego białka wynosiła 160 kDa.

Uczeni japońscy (29) w badaniach nad STC i jej pochodnymi takimi, jak demetylosterigmatocystyna (DMSTC) i dwuhydrodemetylosterigmatocystyna (DHDMSTC) stwierdzili aktywność dwóch różnych O-metylotransferaz. Wykazali oni, że demetylosterigmatocystyna i dwuhydrodemetylosterigmatocystyna są metylowane do sterigmatocystyny i dwuhydrosterigmatocystyny przy udziale O-metylotransferazy I (MT I), a te z kolei metylowane są do O-metylosterigmatocystyny (OMSTC) i dwuhydro-O-metylosterigmatocystyny (DHOMSTC) przy udziale metylotransferazy II (MT II). Schemat ostatnich etapów biosyntezy aflatoksyn wyglądałby zatem następująco:



Wymienione dwie metylotransferazy są różnymi cząsteczkami białek o masach cząsteczkowych odpowiednio 210 i 180 kDa. Metylotransferaza II mogłaby zatem odpowiadać metylotransferazie wyizolowanej i oczyszczonej przez Bhatnagara i wsp. (6).

Metody oznaczania sterigmatocystyny

Oznaczenie obecności sterigmatocystyny, podobnie jak innych mikotoksyn, polega ogólnie na otrzymaniu ekstraktu próbki, odpowiednim jego oczyszczeniu i oznaczeniu toksyny jedną z technik chromatograficznych. Różnice w poszczególnych metodach dotyczą wyboru sposobu ekstrakcji i odpowiedniej mieszaniny rozpuszczalników, doboru odpowiedniej skutecznej metody oczyszczania ekstraktu lub ich kombinacji oraz zastosowania jednej z metod chromatograficznych. Najczęściej stosuje się chromatografię cienkowarstwową jedno- lub dwukierunkową oraz wysokociśnieniową chromatografię cieczową HPLC.

Jako mieszaniny ekstrakcyjnej najczęściej używano roztworów metanol + 4% KCl 9 + 1 (v + v) (11, 22) lub acetonitryl + 4% KCl 9 + 1 lub 85 + 15 (12, 22, 25).

Najważniejszym etapem oznaczenia jest oczyszczanie otrzymanego ekstraktu. Chodzi tu o usunięcie w stopniu maksymalnym substancji, które mogłyby maskować STC, takich jak tłuszcze czy barwniki, przy jednoczesnej jak najmniejszej stracie STC. Spośród technik oczyszczających najczęściej stosowane są: ekstrakcja heksanem i chloroformem (1, 22, 25), chromatografia kolumnowa z Florisilem (11, 23), poliamidem (11), żelem krzemionkowym (1, 25) lub węglanem miedzi (12). Lepszy efekt oczyszczenia uzyskuje się stosując kombinację kilku technik oczyszczających. Np. Van Egmond (11) oznaczając zawartość STC w serze, poddał otrzymane ekstrakty metanolowe oczyszczaniu metodą chromatografii kolumnowej z Florisilem oraz na kolumnie poliamidowej, a następnie dwukierunkowej chromatografii cienkowarstwowej na płytkach z żelem krzemionkowym. W celu wzmocnienia fluorescencji rozwinięte chromatogramy spryskał etanolem w roztworze AlCl₃ i mierzył fluorescencję STC w świetle UV. Granica oznaczalności tej metody wynosiła 5 µg/kg, a odzysk 80% dla dodatku STC 50 µg/kg i 30% dla dodatku 10 µg/kg. Dla porównania podobna metoda oznaczania STC w zbożach i soi zastosowana przez Shannona i wsp. (22), tyle że bez oczyszczania na kolumnie poliamidowej i z jednokierunkową chromatografią cienkowarstwową, charakteryzowała się granicą oznaczalności 50 µg/kg. Francis i wsp. (12) zastosowali oczyszczanie acetonitrylowego ekstraktu sera na kolumnie z węglanem miedzi, rozwinięte chromatogramy spryskali roztworem AlCl₃, a następnie w celu dalszego wzmocnienia fluorescencji roztworem silikon – eter. Odzysk w tej metodzie wynosił dla dodatku STC 10 i 25 µg/kg odpowiednio 88,3 i 86,4%. Stack i wsp. (24) dla oznaczeń STC w pszenicy i w owsie zastosowali oczyszczanie ekstraktów przez wytrząsanie z heksanem i chloroformem, następnie metodę chromatografii kolumnowej z żelem krzemionkowym, a dodatkowo metodę filtracji żelowej na żelu Bio-beads S-X3 z chloroformem jako fazą ruchomą. Zawartość STC w oczyszczonych ekstraktach oznaczali metodą HPLC. Schmidt i wsp. (21) natomiast po ekstrakcji heksanem i chloroformem przepuszczali ekstrakt przez kolumny C₁₈ Sep-Pak, a STC eluowali roztworem metanol – woda i oznaczali metodą HPLC z detektorem UV.

Abramson i wsp. (1) oznaczali w jęczmieniu stabilną pochodną acetylową STC. W tym celu otrzymany ekstrakt, oczyszczony przez ekstrakcję z heksanem i chloroformem oraz metodą chro-

matografii kolumnowej z żelazem krzemionkowym, ogrzewali z pirydyną i bezwodnikiem octowym w celu uzyskania pochodnej acetylowej STC, którą oznaczano metodą chromatografii cieczowej. Odzysk STC w tej metodzie wynosił odpowiednio 31, 69, 75 i 96% dla dodatku 20, 110, 190 i 1765 µg/kg.

Ramakrishna i wsp. (20) opracowali prostą metodę oznaczania sterigmatocystyny w produktach roślinnych. Zarówno oczyszczanie ekstraktu, jak i oznaczenie półilościowe przeprowadzili oni na tej samej minikolumnie wypełnionej Florisilem. Metoda ta mogła być zastosowana jako rutynowa do półilościowego oznaczania STC w ryżu, pszenicy, kukurydzy i sorgo.

Chemiczne metody oznaczania STC z zastosowaniem chromatografii cienkowarstwowej i HPLC są długotrwałe, pracochłonne i drogie. Metodami tańszymi, szybszymi, mniej pracochłonnymi, a jednocześnie równie czułymi i specyficznymi są metody immunologiczne, a zwłaszcza ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Są to metody oparte na zasadzie reakcji antygen – przeciwciało, zatem najważniejszą rzeczą w tych metodach jest uzyskanie odpowiednio specyficznego przeciwciała. Morgan i wsp. (18) podjęli próbę pozyskania przeciwciała dla STC i jego zastosowania w teście ELISA. Ze względu na trudności z ekstrakcją toksyny z próbek w środowisku wodnym zaproponowali oni test, w którym mogła być oznaczana pochodna hemiacetalowa STC. Zastosowanie przeciwciał specyficznych wobec hemiacetalu STC w jęczmieniu dało granicę oznaczalności testu 10 pg/próbkę. Chung i wsp. (7) zastosowali metodę ELISA do śledzenia produkcji STC przez *A. versicolor* i *A. nidulans*.

Sterigmatocystyna w mleku i przetworach mleczarskich

Na skutek strukturalnego pokrewieństwa STC z aflatoksynami oraz podobnego zachowania się w metabolizmie istnieje podejrzenie, że STC może częściowo przechodzić do mleka i produktów mleczarskich. Zjawisko to jednak do tej pory nie zostało jednoznacznie potwierdzone. Wynika to m.in. z braku odpowiednio czulej metody, która pozwalałaby na oznaczanie tak małych stężeń STC w mleku, jak to jest możliwe w przypadku aflatoksyn. Niemniej jednak Kiermeier i Kraus (14) wykazali w badaniach modelowych, że przejście sterigmatocystyny z paszy sztucznie zakażonej do mleka krowy, a następnie do produktów mleczarskich jest możliwe, chociaż nie uzyskano jednoznacznego potwierdzenia metodą spektroskopii masowej. W procesie produkcji sera z takiego mleka sterigmatocystyna prawie w całości przechodzi do ziarna serowego. Wyjaśnić to można nierozpuszczalnością toksyny w wodzie oraz dużą zdolnością do wiązania się STC z białkami mleka (14). Niezbędne są dalsze badania z tego zakresu w celu jednoznacznego wyjaśnienia zjawiska przechodzenia STC z paszy do mleka.

Innym problemem jest występowanie sterigmatocystyny w zewnętrznej warstwie serów, będące wynikiem zakażenia sera pleśniami toksynotwórczymi na etapie produkcji, dojrzewania lub przechowywania sera. Sery są bardzo dobrym podłożem do wzrostu pleśni i produkcji sterigmatocystyny. Veringa i wsp. (27) przebadali czynniki wpływające na wzrost *A. versicolor* i produkcję STC na serze. Stwierdzili oni, że laktoza, tłuszcz oraz niektóre produkty hydrolizy tłuszczu, zwłaszcza glicerol są czynnikami stymulującymi produkcję toksyny na serach. Przeprowadzono badania z serami gouda i edamski naturalnie zakażonymi w magazynach *A. versicolor*. Wykazano, że STC była tworzona w różnych temperaturach prze-

chowywania w zakresie $a_w = 0,84-0,93$ w ilości do 0,6 µg/g sera w 1 cm warstwie zewnętrznej (10). Stężenie toksyny obniżało się gwałtownie w głąb sera. 65-96% ogólnej ilości toksyny odkryto w pierwszej milimetrowej warstwie sera (28). Migracja toksyny w serze „wilstermarsch” po zaszczepieniu *A. nidulans* i inkubacji w temp. 15°C lub temp. pokojowej przez 40 dni była ograniczona do 0,5 cm jego zewnętrznej warstwy. Podobne wyniki otrzymano z próbkami sera gouda naturalnie zakażonymi *A. versicolor* (10). Stabilność sterigmatocystyny w zewnętrznej warstwie sera gouda przebadano w temp. -18°C, +4°C i +16°C. W temperaturach tych stężenie toksyny nie obniżyło się znacząco w czasie 3-miesięcznego okresu przechowywania (10).

Dostępne dane na temat właściwości sterigmatocystyny, a zwłaszcza jej roli w biosyntezie aflatoksyn zawierają jeszcze szereg niejasności. Wciąż rozwijane są nowe metody oznaczania sterigmatocystyny, pozwalające określić coraz mniejsze jej ilości w różnych materiałach. Wskazuje to pośrednio na potrzebę kontynuacji dalszych badań nad sterigmatocystyną w surowcach i produktach spożywczych.

Piśmiennictwo

1. Abramson D., Thorsteinson T.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. 72, 342, 1989.
2. Betina V.: „Mycotoxins – Chemical, Biological and Environmental Aspects”. Elsevier Sci. Publ., Amsterdam 1989.
3. Bhatnagar D., Cleveland T.E., Lax A.R.: Arch. Environ. Contam. Toxicol. 18, 434, 1989.
4. Bhatnagar D., Cleveland T.E., Lillehoj E.B.: Mycopathologia 107, 75, 1989.
5. Bhatnagar D., McCormick S.P., Lee L.S., Hill R.A.: Appl. Environ. Microbiol. 53, 1028, 1987.
6. Bhatnagar D., Ullah A.H.J., Cleveland T.E.: Prep. Biochem. 18, 321, 1988.
7. Chung D.-H., Abouzied M.M., Pestka J.J.: Mycopathologia 107, 93, 1989.
8. Cleveland T.E., Bhatnagar D.: Can. J. Microbiol. 33, 1008, 1987.
9. Davis N.D.: J. Fd Prot. 44, 711, 1981.
10. Egmond Van H.P.: Mycotoxins in Dairy Products. Elsevier Applied Sci., London – New York 1989.
11. Egmond Van H.P., Paulsch W.E., Deijll E., Schuller P.L.: J. Ass. Off. Anal. Chem. 63, 110, 1980.
12. Francis O.J., Ware G.M., Carman A.S., Kuan S.S.: J. Ass. Off. Anal. Chem. 68, 643, 1985.
13. Jeenah M.S., Dutton M.F.: Biochem. Biophys. Res. Commun. 116, 1114, 1983.
14. Kiermeier F., Kraus P.V.: Z. Lebensm. Unters. Forsch. 170, 421, 1980.
15. Lepom P., Kloss H.: Mh. Vet.- Med. 43, 516, 1988.
16. Lepom P., Kloss H.: Mycopathologia 101, 25, 1988.
17. Mashaly R.I., Habib S.L., El-Deeb S.A., Salem M.H., Safwat M.M.: Z. Lebensm. Unters. Forsch. 186, 118, 1988.
18. Morgan M.R.A., Kang A.S., Chan H.W.-S.: J. Sci. Fd Agric. 37, 873, 1986.
19. Paul P., Thurm V.: Nahrung 23, 117, 1979.
20. Ramakrishna Y., Bhat R.V.: Mycopathologia 110, 153, 1990.
21. Schmidt R., Mondani J., Ziegenhagen E., Dose K.: J. Chromatogr. 207, 435, 1981.
22. Shannon G.M., Shotwell O.L.: J. Ass. Off. Anal. Chem. 59, 963, 1976.
23. Singh R., Hsieh D.P.H.: Appl. Environ. Microbiol. 31, 743, 1976.
24. Stack M.E., Nesheim S., Brown N.L., Pohland A.E.: J. Ass. Off. Anal. Chem. 59, 966, 1976.
25. Thurm V., Paul P., Koch C.E.: Nahrung 23, 111, 1979.
26. Thurm V., Koch C.E., Paul P.: Nahrung 23, 121, 1979.
27. Veringa H.A., van den Berg G., Daamen C.B.G.: Neth. Milk Dairy J. 43, 311, 1989.
28. Versoender R.F., Horn B.W.: Appl. Environ. Microbiol. 49, 234, 1985.
29. Yabe K., Ando Y., Hashimoto J., Hamasaki T.: Appl. Environ. Microbiol. 55, 2172, 1989.

Adres autora: mgr inż. Jacek Domagała, ul. Mazowiecka 10/12, 30-036 Kraków