

# MIKROBNI TOKSINI U ŽITARICAMA

---

**Radočaj, Ivana**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Karlovac University of Applied Sciences / Veleučilište u Karlovcu**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:128:147433>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-18**



**VELEUČILIŠTE U KARLOVCU**  
Karlovac University of Applied Sciences

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Karlovac University of Applied Sciences - Institutional Repository](#)



zir.nsk.hr



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Veleučilište u Karlovcu  
Stručni studij prehrambene tehnologije  
Prerada mlijeka

**Ivana Radočaj**

## **MIKROBNI TOKSINI U ŽITARICAMA**

ZAVRŠNI RAD

**Karlovac, 30. rujan, 2019.**

**Veleučilište u Karlovcu**  
Stručni studij prehrambene tehnologije  
Prerada mlijeka

**Ivana Radočaj**

**Mikrobni toksini u žitaricama**

Završni rad

Mentor: dr.sc. Sandra Zavadlav, dipl. ing.  
Broj indeksa studentice:0314617072

Rad je izrađen u laboratoriju Odsjeka za kontrolu namirnica i predmeta opće uporabe, Zdravstveno-ekološki odjel na Nastavnom Zavodu za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije u Rijeci, pod mentorstvom dr.sc. Sandre Zavadlav, dipl. ing., na Veleučilištu u Karlovcu, stručni studij Prehrambene tehnologije.

*Veliku zahvalnost iskazujem svojoj mentorici dr.sc. Sandri Zavadlav, dipl. ing., zbog svih savjeta, pomoći i truda oko izrade ovog Završnog rada. Također Vam zahvaljujem na svim savjetima kroz period studiranja na Veleučilištu u Karlovcu.*

*Zahvaljujem se i svim ostalim profesorima Veleučilišta u Karlovcu na trudu i želji u prenošenju bitnih iskustava i znanja sa područja raznih tehnologija i znanosti.*

*Zahvaljujem se svim djelatnicima Nastavnog Zavoda za javno zdravstvo PGŽ sa Zdravstveno-ekološkog odjela, a posebno djelatnicima Odsjeka za kontrolu namirnica i predmeta opće uporabe na iskazanoj pomoći potrebnoj za izradu ovog Završnog rada, prenesenim znanjima i iskustvima, razumijevanju te ugodnoj radnoj atmosferi.*

*Posebnu zahvalnost pridajem onima koji su mi bili podrška za vrijeme studiranja.*

*Hvala Vam!*

## **Mikrobni toksini u žitaricama**

### **SAŽETAK**

Uz niz mikroorganizama, kao uzročnici kvarenja različitih namirnica biljnog i animalnog podrijetla, javljaju se različite plijesni. Njihovi metaboliti, tj. sekundarni produkti metabolizma nazvani mikotoksini su skupina prirodnih spojeva koji se razlikuju po kemijskoj strukturi i biološkoj aktivnosti. Mikotoksini u organizmu ljudi i životinja imaju različite toksične učinke i mogu izazvati brojne opasne bolesti nazvane mikotoksikoze. Osim bakterijskih i fungalnih toksina, toksične produkte mogu proizvesti i ostali jednostavni mikroorganizmi. Ti toksični produkti predstavljaju veliku opasnost za ljudski organizam.

***Ključne riječi:*** aflatoksini, mikotoksikoze, mikotoksini, plijesan, žitarice

## **Microbic toxins in cereals**

### **ABSTRACT**

Along with a series of microorganisms, different moulds occur as causes for the spoilage of different foods of plant and animal origin. Their metabolites, i.e. secondary products of metabolism called mycotoxins are a group of natural compounds that differ in chemical structure and biological activity. Mycotoxins have different toxic effects in human and animal organisms and can cause dangerous diseases called mycotoxicoses. In addition to bacterial and fungal toxins, toxic products can also be produced by other simple microorganisms. These toxic products pose a great danger to the human body.

***Keywords:*** aflatoxins, cereals, mildew, mycotoxicoses, mycotoxins

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1. ŽITARICE</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1.1. POVIJEST ŽITARICA U LJUDSKOJ PREHRANI</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1.2. PLOD ŽITARICA (ZRNO)</b> .....	<b>2</b>
<b>2.1.3. KRUH</b> .....	<b>3</b>
<b>2.2. ORAŠASTI PLODOVI</b> .....	<b>4</b>
<b>2.3. PLIJESNI</b> .....	<b>7</b>
<b>2.4. MIKOTOKSINI</b> .....	<b>8</b>
<b>2.5. ZNAČAJ AFLATOKSINA B1 I DOZVOLJENE VRIJEDNOSTI</b> .....	<b>10</b>
<b>2.6. OCHRATOKSIN</b> .....	<b>12</b>
<b>2.7. UTJECAJ TOKSINA NA LJUDSKO ZDRAVLJE I PREVENCIJA</b> .....	<b>12</b>
<b>3. EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>15</b>
<b>3.1. MATERIJALI</b> .....	<b>15</b>
<b>3.2. METODE</b> .....	<b>16</b>
<b>3.2.1. Ukupni aflatoksini</b> .....	<b>16</b>
<b>3.2.2. Aflatoksin B1</b> .....	<b>18</b>
<b>4. REZULTATI</b> .....	<b>19</b>
<b>5. RASPRAVA</b> .....	<b>25</b>
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	<b>26</b>
<b>7. LITERATURA</b> .....	<b>27</b>



## 1. UVOD

Razne vrste toksina prisutne su u hrani i piću koje redovito unosimo u svoj organizam, a potrošače zanima u kojoj količini su dozvoljene u hrani. Propisane količine mogu se pronaći u Pravilniku o toksinima, metalima, metaloidima te drugim štetnim tvarima koje se mogu nalaziti u hrani. Značajna je činjenica da su štetni utjecaji hrane s plijesnima otkriveni još u Kini prije više od 5000 godina, ali nije svaka plijesan otrovna. Plijesan čini otrovnom proizvodnja mikotoksina, odnosno produkta ili poluprodukta nastalih u procesu metabolizma plijesni, a upravo oni imaju negativne biološke posljedice na ljude i životinje koji ih preko hrane konzumiraju.

Dosad je poznato stotinjak vrsta plijesni koja proizvodi mikotoksine, a postoji ih više od 300 vrsta različitih razina štetnosti. Ozbiljnije su se počeli proučavati prije pedesetak godina kad je otkriveno da je za smrt velikog broja pilića u Engleskoj kriva smjesa hrane od kikirikija u kojoj se nastanila gljivica koja proizvodi kemijski spoj kasnije nazvan aflatoksin, koji je najpoznatiji mikotoksin. Ljudi su mikotoksinima izloženi putem kontaminiranih namirnica, a bolesti koje uzrokuju javljaju se u akutnom ili kroničnom obliku te se nazivaju mikotoksikozama. Njihove su posljedice jasno izraženi simptomi trovanja, ponekad i smrt. Kronični oblici mikotoksikoza uzrokuju karcinome, poremećaje hormonalnog sustava, probleme s imunološkim sustavom, cirozu jetre i oštećenje bubrega, a mogu biti i uzročnici pobačaja.

Veliki problem je to što se mikotoksini godinama skupljaju u organizmu, u masnom tkivu, mliječnim žlijezdama, mišićima i kostima te zbog akumulacije mogu izazvati velike zdravstvene probleme koje je teško liječiti.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. ŽITARICE

Žitarice su skupina jednogodišnjih biljaka iz porodice trava. Plodove žitarica nazivamo zrna ili **pšena**. Osim što su od iznimnog značaja u prehrani ljudi, žitarice se koriste i za prehranu stoke te u prerađivačkoj industriji. Gotovo polovinu svih obradivih površina u svijetu zauzimaju upravo žitarice, a to ih čini najvažnijim ratarskim kulturama. U Hrvatskoj je njihova zastupljenost još veća – od ukupnih poljoprivrednih površina u našoj zemlji, žitaricama je zasijano preko 60%. Prema udjelu prednjače kukuruz i pšenica (Kovačević, 2014).

#### 2.1.1. POVIJEST ŽITARICA U LJUDSKOJ PREHRANI

Najdulju poznatu povijest ima **pšenica**, koja se uzgajala u 7. tisućljeću prije Krista. Ječam također ima impresivnu povijest – uzgajao se u 5. i 6. tisućljeću prije Krista na području Mezopotamije. I proso pripada najstarijim poljoprivrednim kulturama. Sve su žitarice kroz povijest bile važna namirnica u prehranjivanju čovječanstva. Štoviše, može se reći da je svijet i opstao zahvaljujući energiji dobivenoj iz ugljikohidrata žitarica. U početku su žitarice bile samonikle trave, čije je sjemenke čovjek skupljao i pripremao ih za jelo na razne načine. Međutim, dug je bio put do kruha. Žitarice su se prvo jele u obliku kaše, zatim lepinje, a nakon par tisućljeća i u obliku kruha- koji ubrzo postaje namirnica naša svagdašnja.

#### 2.1.2. PLOD ŽITARICA (ZRNO)

Zrno ili pšeno je jedno sjemeni plod (caryopsis) s tankim omotačem ploda koji je srastao sa sjemenkom. Plod (zrno) pravih žitarica je izduženog oblika, razlikuju se leđna (ispupčena) i trbušna strana, na kojoj se cijelom dužinom zrna proteže plića ili dublja brazdica, a na vrhu zrna se nalazi tzv. bradica koja se sastoji od slabije ili jače izraženih dlačica. Durum pšenice imaju slabije izraženu bradicu i brazdicu od mekih pšenica. U bazi zrna s leđne strane izvana je vidljiva klica. Prosolike žitarice nemaju brazdicu i bradicu. Postoje razlike u pljevičavosti zrna pa žitarice mogu imati golo zrno, kada ono ispada iz pljevica prilikom žetve, ili pljevičasto (obuveno) zrno koje je obavijeno pljevicama.

Golo zrno imaju pšenica, raž, tritikale i kukuruz. Zrno ječma i riže je pljevičasto i pljevice su srasle sa zrnom. Zob, proso i sirak također imaju pljevičasto zrno, ali kod njih pljevice samo omotavaju zrno. Od ostalih razlika mogu se izdvojiti veličina, oblik i boja zrna, što je osobito izraženo kod podvrsta i hibrida kukuruza. Pljevice zobi su obrasle gustim dlačicama. Zrno raži

je obraslo dlačicama, naborane površine, osobito na leđnoj strani i zelenkaste je boje. Sirak ima obavijeno zrno ili je ono bez pljevica, a okruglog je ili jajastog oblika. Proso ima izrazito sitno zrno apsolutne mase 4-8 g (pšenica oko 40 g), a kod riže je udjel pljevica u ukupnoj masi zrna oko 20% (Kovačević, 2014).

### 2.1.3. KRUH

**Kruh** je proizvod koji se dobiva miješanjem brašna s vodom, mlijekom, sirutkom, ili nekom drugom tekućinom uz dodatak kuhinjske soli ili šećera, masnoća, jaja i sredstva za dizanje tijesta. Prvi su kruh, i to od pšenice i ječma, pekli Egipćani 1500 godina pr. Kr., vjerojatno je bio beskvasni i zapravo pogača od brašna, soli, koja se pekla u žeravici i pod pepelom u peći, na što upućuju slike na zidovima grobnica i zapisi starih Egipćana. Kruh su pekli u najrazličitijim oblicima, često u obliku životinja ili ljudi, jer su služili za vjerske ili magijske potrebe i posipali ga raznim sjemenkama (često kimom). U antička vremena uz omiljene kaše, kruh je također bio dobro poznat. Stari Grci su 70% svoje energije dobivali iz žitarica, a robovi su svakodnevno pekli i kruh. Hipokrat je već onda upozoravao da moramo paziti što jedemo i kako nije svejedno da li jedemo bijeli ili crni kruh, a Celsus je pisao kako kruh sadrži više hranjivih sastojaka nego bilo koja druga hrana. Rimljanima je kruh bio također jedna od najvažnijih namirnica, ondašnji pekari su za aristokrate morali za svako jelo poslužiti odgovarajuću vrstu kruha, pekli su lepinje posute makom, lovorom, bademima, kruščiće sa sirom, maslinama, a osobito su bili omiljeni oni sa začinskim biljem poput peršina ili vlasca. Rimske vojnike nazivalo se "žderačima kruha", jer su dobivali kilogram kruha dnevno.

U ranom Srednjem vijeku uzašli kruh se uglavnom nije pekao u pećima, jer njih su imali samostani i vlastela. Kruh se pekao od žitarica bez dovoljno glutena poput zobi, ječma i raži, koji se teško dizao i bio je vrlo taman. Kruh pripremljen od bijelog brašna bio je privilegija bogatih, a raženi su dobivali zatvorenici, kojeg su ponekad jeli fratri kako bi pokazali svoju poniznost, a status se procjenjivao po boji kruha, bijeli su jeli oni na vrhu društvene ljestvice, a oni na dnu, crni kruh.

Danas se kruh izrađuje se od različitih tipova brašna. Pšenično brašno *tip 500* koristi se za bijeli kruh, *tip 850* za polubijeli i *tip 1100* za crni kruh, a koristi se još i pšenična prekrupa za graham kruh i raženo brašno *tip 750*, *tip 950* i *tip 1250* za svijetli i tamni raženi kruh. Kruh može biti i kukuruzni, heljdin, i specijalni. U Hrvatskoj se do sveopćeg porasta standarda u drugoj polovici 20. stoljeća, u krajevima koji nisu imali velikih žitorodnih površina, u krušne smjese dodavalo

i brašno od drugih biljaka, primjerice rogača, a dodavao se i hrastov žir (<https://hr.wikipedia.org/wiki/Kruh>).

## 2.2. ORAŠASTI PLODOVI

Skupini orašastog voća pripadaju orasi, kesteni, bademi, kikiriki, lješnjaci, pistacija i mnoge podvrste koje ne rastu u našem podneblju, kao npr. makadamijski orah, brazilski orah, indijski i japanski orasi i sl.

S obzirom na dostupnost i učestalost konzumacije zadržat ću se na onima koji rastu kod nas i s kojima se najčešće susrećemo. Orašasti plodovi nezaobilazan su dio ljudske prehrane, bilo samo kao grickalice ili dodaci jelima; bogati su za srce i krvožilni sustav važnim omega 3 kiselinama, vitaminima i mineralima te s obzirom i na kaloričnost, izvor su energije. Mogu se osim sirovih, pripremati na razne načine (prženjem, kuhanjem), kao dodatak jelima ili kao jedan od sastojaka gotovih proizvoda.

Koriste se i u kozmetičkoj industriji, prerađeni kao ulja ili sastojci mnogobrojnim preparatima. Dnevno se ne preporučuje konzumirati više od šalice orašastih plodova jer su bogati mastima. Bogatiji kalcijem od drugog orašastog voća su **bademi**; dijele se na slatke i gorke bademe, s time da su gorki otrovni, a slatki su najukusniji mladi i svježi (Kulier, 2013).

### 2.2.1. KIKIRIKI I KIKIRIKI PASTA

Kikiriki (lat. *Arachis hypogaea*) je biljna vrsta u porodici mahunarki (Fabaceae) a potječe iz Južne Amerike, Meksika i Srednje Amerike. Za ljudsku uporabu koristi se sjeme kikirikija. Kikiriki je bogat izvor bjelančevinama, vlaknima, mineralima, željezom, cinkom i vitaminima E i K. Kikiriki ne sadrži kolesterol, a upotrebljava se kao dodatak kolačima, za proizvodnju maslaca i ulja od kikirikija i drugo (<https://hr.wikipedia.org/wiki/Kikiriki>).

Šalica **kikirikija** (146g) ima otprilike 828 kalorija,

38g proteina,

24g ugljikohidrata,

72g masti,

13g kalcija,

37g željeza, izvor je niacina, folne kiseline mangana i cinka.

Kikiriki je prirodan izvor vitamina D i E (Kulier, 2013).

Maslac od kikirikija je jedan od najprodavanijih maslaca od orašastih plodova. Njegova popularnost je porasla u posljednjim godinama, posebno sa sve većim isticanjem važnosti zdravih masti u ljudskoj prehrani, kojima je ovaj maslac jako bogat. Upravo je udio masti ono zbog čega se mnogi boje maslaca od kikirikija. Kad se govori o zdravstvenim prednostima uzimanja maslaca od kikirikija, na teret mu se stavlja udio zasićenih masti, no potvrđeno je da ni ova vrsta masti nema negativan utjecaj na zdravlje.

Na tržištu je dostupno više vrsta maslaca od kikirikija, različitih brendova. Da bi odabrali kvalitetan maslac važno je pročitati deklaraciju i sastav maslaca. Kikiriki maslac proizveden je od 100% kikirikija i ne sadrži nikakve druge dodatke. Za razliku od maslaca poželjnog sastava, u trgovinama može se naći i kikiriki maslace u čijem sastavu, osim kikirikija ima i soli, biljnih ulja (najčešće palmino), šećera i drugih dodataka.

### **2.2.2. ORASI**

Orah su rod biljaka iz porodice Juglandaceae. To je drvo visoko 10-40m, sa šiljastim listovima dugim 20-30cm. Dvadeset jedna vrsta oraha proteže se od sjeverne umjerene klime Starog svijeta u području od jugoistočne Europe do Japana, a u Novom svijetu od jugoistočne Kanade do Kalifornije na zapad i Argentine na jug.

Orasi imaju dvostruko veću razinu antioksidansa polifenola od svih orašastih proizvoda i tako pomažu tijelu u borbi protiv slobodnih radikala koji oštećuju stanice i uzrokuju bolesti, pokazalo je istraživanje na Sveučilištu u Pennsylvaniji.

Orašasti plodovi kao što su bademi, kikiriki, pistacije, lješnjaci i indijski oraščići također su bogati nezasićenim masnim kiselinama, vitaminima i proteinima, ali znanstvenici upozoravaju da je problem što ih ljudi ne jedu dovoljno. Orahova jezgra najviše sadrži ulja (55-65%), zatim visokovrijednih bjelančevina (15%) te isto toliko ugljikohidrata, a bogata je i kalijem, magnezijem, fosforom, željezom te vitaminima B i C. List oraha sadrži čvrsto ulje žućkaste boje, tanin, kiseline te tvari ljutog i gorkog ukusa. Pošto sadrži neraspadnute ljekovite sastojke, od orahovog lišća se mogu spravljati sirupi, ekstrakti i slični preparati. Osim što su bogati antioksidantima, sadrže i zdrava vlakna, proteine, vitamine i minerale. Ne čude stoga istraživanja koja pokazuju da redovno uzimanje oraha može smanjiti rizik od srčanih bolesti, nekih oblika raka i dijabetesa tipa 2. Jedna od zanimljivosti jest i da ORAH izgleda kao mali mozak, čak su bore i uvijanja baš kao i neo-korteks. Danas je poznato da orah pomaže u razvoju više od tridesetak neuro-transmitera za moždane funkcije (Kulier, 2013).

### 2.2.3. MAK

**Makovi** (Papaver), biljni rod iz porodice makovki (Papaveraceae) sa blizu 100 priznatih vrsta, među kojima su najpoznatiji i poljski i vrtni ili opijumski mak. Makovke se klasificiraju redu žabnjakolike (Ranunculales). Mogu se javljati kao jednogodišnje, dvogodišnje ili višegodišnje biljke, raširene po umjerenim i hladnijim krajevima Euroazije, Afrike i Sjeverne Amerike. Cvijet može biti crvene, roze, narančaste, žute ili bijele boje, a ima 4 do 6 latica.

Najpoznatija vrsta, vrtni mak, sirovina je za proizvodnju nekih droga, a koristi se i u kućanstvu za pripremu kolača (makovnjača) (<https://hr.wikipedia.org/wiki/Mak>).

Sjeme maka je izuzetno bogato nezasićenim masnim kiselinama, posebno oleinskom i linolnom (esencijalna omega 6 masna kiselina koju organizam ne stvara). Nalazi se u staničnim membranama biljaka i sudjeluje u njihovoj izgradnji, a potiče resorpciju i transport vitamina A, D, E i K, koji su topivi u mastima. Od sjemena maka proizvodi se ulje, koje je dobra zamjena za maslinovo. Jestivo je, a dobiva se hladnim prešanjem sirovog sjemena. Mak koji se prodaje u prehrambenim objektima ne sadrži alkaloidne (stvaraju ovisnost), jer je sjeme osušeno, pa slabo djeluje na nervni sistem.

### 2.3. PLIJESNI

**Plijesan** čine mikroskopske gljive koje rastu u obliku hifa. Kolonija plijesni sastoji se od povezanih, umreženih hifa koje tvore micelij. Imaju genetski identične stanice. Micelij plijesni izlučuje hidrolitične enzime, koji razlažu organske tvari u jednostavne šećere. Izlučene tvari pripremaju hranu za gljivu, koju onda hife jednostavno upijaju.

Crna, zelena ili žuta boja plijesni potječe od njihovih spora (stanica kojima se razmnožavaju). U plijesan pripadaju gljive iz odjeljaka *Zygomycota*, *Deuteromycota* i *Ascomycota*. Plemenite plijesni koriste se u proizvodnji sireva. Plijesni su u stalnoj borbi s bakterijama oko hrane. Da bi se oslobodile bakterija, luče tvari koje su otrovne za bakterije. Te tvari su poznate pod imenom antibiotici. Prema podacima znanstvenih istraživanja poznato je preko 100.000 vrsta plijesni i gljivica od kojih se od toga nekoliko stotina pojavljuje u stambenim prostorijama. Primjećujemo ih u našem stanu tek tada kad one mijenjaju boju jer im se promijene životni uvjeti u kojima se razvijaju. Pojavljuju se u mnoštvu različitih tonova boja: zelenoj, crnoj, sivoj, crvenoj pa i žutoj (<https://hr.wikipedia.org/wiki/Plijesan>).

Tijekom svog razvijanja one stvaraju sjeme koje je tako sićušno da se ne može zamijetiti golim okom. Ove se spore u zraku mogu formirati u milijunskim količinama i na taj se način (zrakom) dalje prenose. Zajedno s toplinom, vlagom i hranidbenom podlogom one stvaraju nova gljivična gnijezda koja onda dalje proizvode milijunske količine novih spora.

Kao što je spomenuto, plijesan je jednostanični organizam i golim okom je vidljiv samo kada je toliko razmnožen da stvori micelij. No, širenje micelija nije uvijek vidljivo, pa je problem identificirati hranu 'sigurnu' za jelo.

## 2.4. MIKOTOKSINI

Plijesni roda *Aspergillus* među najčešćim su uzročnicima kvarenja hrane i hrane za životinje, a u nepovoljnim uvjetima mogu proizvesti mikotoksine kao toksične sekundarne metabolite. Aflatoksini su skupina mikotoksina koji često onečišćuju različite žitarice, među kojima najčešće kukuruz, a ulaskom u prehrambeni lanac uslijed ishrane životinja onečišćenim krmivom, mogu biti prisutni i u hrani životinjskog podrijetla. Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC) svrstava aflatoksine u humane karcinogene skupine 1A, a sa stajališta zdravstvene ispravnosti, jedan od najvažnijih mikotoksina je aflatoksin B1. Zbog snažnog karcinogenog, teratogenog i mutagenog djelovanja, čiji su učinci u ljudi i životinja u ovisnosti o razini i trajanju izlaganja, prisutnost aflatoksina B1 u hrani i hrani za životinje potrebno je potpuno spriječiti ili zadržati na najnižoj mogućoj razini. Kako prisutnost aflatoksina može biti opasna po zdravlje ljudi i životinja, u cilju sprječavanja štetnih učinaka, ali i posljedičnih gospodarskih problema velikih razmjera, stalna kontrola u hrani i hrani za životinje od velikog su značaja širom svijeta. U cilju proizvodnje zdravstveno ispravne hrane potreban je kontinuirani razvoj novih metoda za detekciju aflatoksina i redukciju onečišćenja kao i sustavna provedba monitoringa na reprezentativnom broju uzoraka hrane i hrane za životinje (Pleadin i sur., 2014).

### 2.4.1. NASTANAK MIKOTOKSINA

Sušni uvjeti i visoke temperature tijekom rasta i berbe kukuruza, potiču rast *Aspergillus* vrsta, a time i proizvodnju AFB1, uz optimalnu temperaturu u rasponu 25 do 42 °C (Santin, 2005). Upravo takvi vremenski uvjeti, zabilježeni u Republici Hrvatskoj, bili su uzrokom pojave onečišćenja kukuruza i krmnih smjesa za goveda sa AFB1 te posljedično i mlijeka sa AFM1 sa farmi mliječnih goveda (Pleadin i sur., 2014) Također, visoke temperature i sušna razdoblja pogoduju kolonizaciji raznih insekata i dovede do pucanja i oštećenja zrna kukuruza, dodatno omogućavajući sintezu toksina. Ranija istraživanja ukazuju na to da pojavnost onečišćenja sa AFB1 u značajnoj mjeri ovisi o regiji u kojoj se žitarice uzgajaju (Reddy i sur., 2009).

Utvrđeno je da na stvaranje aflatoksina u različitim biološkim materijalima utječu čimbenici poput vrste supstrata, sadržaja vlage u supstratu, prisutnosti aflatoksikogenih plijesni, prisutnosti mineralnih tvari te mehaničkog oštećenja zaštitne ovojnice zrna.



#### **2.4.2. AFLATOKSINI KROZ PREHRAMBENI LANAC**

Na polju, ali i tijekom skladištenja, može doći do onečišćenja žitarica plijesnima koje proizvode toksične kemijske spojeve mikotoksine (Pleadin i sur., 2014).

Glavni izvor mikotoksina kod ljudi su žitarice i proizvodi na bazi žitarica te orašasti plodovi, ali i proizvodi životinjskog podrijetla uslijed sekundarnog onečišćenja plijesnima koje produciraju mikotoksine.

Stupanj onečišćenja pri tom značajno ovisi o mikroklimatskim uvjetima (sadržaju vlage u proizvodu, relativnoj vlažnosti zraka, temperaturi, pH vrijednosti i supstratu) koji mogu pogodovati rastu plijesni i sintezi mikotoksina.

Aflatoksini su stabilni kemijski spojevi koje postupci prerade hrane uglavnom ne mogu uništiti, a s obzirom da su žitarice čest izvor AFB1 posljedično su onečišćeni i gotovi proizvodi na bazi žitarica. Međutim, onečišćenje aflatoksinima ponekad je i neizbježno, što nameće potrebu za uvođenjem pogodnih postupaka prerade hrane i hrane za životinje kojima bi se mogao inaktivirati toksin (Pleadin, i sur., 2014).

U nekim zemljama svijeta utvrđena je izrazito onečišćenje lokalno uzgojenoga kukuruza, korištenog u krmivima u hranidbi životinja sa farmi za proizvodnju hrane, sa značajno povišenim razinama AFB1 u odnosu na propisane (Pleadin i sur., 2014; Pleadin i sur., 2015). U brojnim zemljama svijeta utvrđeno je onečišćenje mliječnih proizvoda, sjemena pamuka, ječma, zrnja soje, peletirane pšenice, ljuski kikirikija te krmiva na bazi kukuruza i sirka (Decastelli i sur., 2007).

Literatura ukazuju da su ljudi izloženi AFB1, bilo izravnom konzumacijom onečišćene hrane, bilo neizravno konzumacijom proizvoda životinjskoga podrijetla (npr. mlijeka i jaja) podrijetlom od životinja koje su konzumirale onečišćeno krmivo.

## 2.5. ZNAČAJ AFLATOKSINA B1 I DOZVOLJENE VRIJEDNOSTI

Aflatoksini su prirodni mikotoksini koje proizvode mnoge vrste *Aspergillus* gljiva, od kojih su najznačajnije *Aspergillus flavus* i *Aspergillus parasiticus*.

Aflatoksini su otrovni i spadaju među najkancerogenije poznate supstance. Aflatoksini se stvaraju na polju i tokom skladištenja, a najčešće se mogu naći u kukuruзу, sezamu, kikirikiju, pamuku, pistaciji, sjemenkama bundeve, bademu, lješnjaku, suncokretu, soji, sušenom voću, začinima, mlijeku i mliječnim proizvodima te mesu. Najznačajniji aflatoksini su aflatoksin B1, B2, G1, G2, M1 i M2 (Evan i sur., 2008).

Aflatoksin B1 je najtoksičniji i gotovo je uvijek prisutan gdje i B2, G1 i G2. Samo aflatoksin B1, koji se može naći u npr. namirnicama koje sadrže neprerađene žitarice, ali ne može se naći u mlijeku, ubraja se u grupu kancerogenih supstanci, tj. spada u grupu 1 prema IARC klasifikaciji (International Agency for Research on Cancer) što znači da je agens karcinogen i da je to dokazano kod ljudi. Aflatoksin M1 spada u grupu 2A što znači da je vjerojatno karcinogen kod ljudi (karcinogenost je dokazana kod životinja).

Aflatoksini su dobili naziv prema A (*Aspergillus*) + FLA (*flavus*) + TOKSIN, a oznake B i G označavaju pojavu plave (Blue) ili zelene (Green) boje fluorescencije pod UV zracima, dok oznaka M označava prisustvo u mlijeku (Milk).

Na teritoriji Europske Unije važe sljedeća ograničenja:  $2 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  za aflatoksin B1 kao i  $4 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  za sumu aflatoksina B1, B2, G1, G2 kod različitih namirnica. Važe različite granične vrijednosti između  $2$  i  $12 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  za aflatoksin B1 kao i između  $4$  i  $15 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  za sumu aflatoksina B1, B2, G1, G2 kod različitih začina, oraħa, ulja, suhog voća i kukuruza.

Za aflatoksin M1 važi da je granična vrijednost 50 nanograma po litri ( $0,050 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) kod svježeg mlijeka, termički obrađenog i industrijskog mlijeka kao i 25 nanograma po litri ( $0,025 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) u hrani za bebe. Za hranu za bebe i malu djecu važi granica od svega 10 nanograma po kilogramu ( $0,010 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) opasnog aflatoksina B1 (Li i sur, 2010).

U svijetu postoje brojni nacionalni propisi kojima se ograničava maksimalno dozvoljena količina aflatoksina u hrani.

**Tablica 1.** Nivo tolerancije za aflatoksin B1. (Mahoney i sur., 2010)

<b>država</b>	<b>maksimalne dozvoljene vrijednosti [<math>\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}</math>]</b>	<b>proizvod</b>
<b>Kanada</b>	15	orasi
<b>Ujedinjeno Kraljevstvo</b>	20	Životinjske namirnice
<b>Europska Unija</b>	2	orasi, suho voće, žitarice
<b>Argentina</b>	0	kikiriki, kukuruz i proizvodi od kukuruza
<b>Brazil</b>	15	Životinjske namirnice
<b>Kina</b>	10	jestiva ulja
<b>Češka Republika</b>	5	Životinjske namirnice
<b>Mađarska</b>	5	Životinjske namirnice
<b>Indija</b>	30	Životinjske namirnice
<b>Japan</b>	10	Životinjske namirnice
<b>Nigerija</b>	20	Životinjske namirnice
<b>Poljska</b>	0	Životinjske namirnice
<b>Južnoafrička Republika</b>	5	Životinjske namirnice
<b>Zimbabve</b>	5	Životinjske namirnice

Aflatoksini su termički stabilni, tako da se u prehrambenoj industriji za čišćenje hrane od njih koriste strojevi koji hranu tretiraju natrij hipokloritom i sličnim kemijskim postupcima. Čišćenje se potvrđuje tekućom kromatografijom s fluorescentnom detekcijom.

## **2.6. OCHRATOKSIN**

Ochratoksin A je široko rasprostranjeni mikotoksin, nađen u hrani biljnog i životinjskog porijekla. To je tek jedan od oko 400 mikotoksina čijem su djelovanju izloženi i čovjek i životinje. Ochratoksin su derivati izokumarina, koji je povezan preko karboksilne skupine amidnom vezom s fenilalaninom. Njegova sličnost s fenilalaninom upućuje na mogućnost interakcija s različitim enzimskim sustavima. Akumulira se u bubrezima i tkivima s većim sadržajem lipida. Istraživanja na prokariotima, eukariotima, pokusnim životinjama, te staničnim kulturama pokazuju da djeluje nefrotoksično, genotoksično, karcinogeno, imunosupresivno, a upliće se i u koagulaciju krvi. Zbog izraženog nefrotoksičnog djelovanja često se koristi u eksperimentalnim modelima ispitivanja mehanizama razvoja patoloških promjena u bubrežnim bolestima, poglavito u ispitivanjima vezanim uz endemsku nefropatiju. Zbog opisanih sličnosti kliničkih i biokemijskih promjena u bolesnika s endemskom nefropatijom i onih koje nastaju djelovanjem ochratoksina A na eksperimentalnim životinjama, ochratoksin A je najčešće studiran kao mogući uzrok ove bolesti. U literaturi su opisani različiti pristupi u stvaranju eksperimentalnih modela, koji se temelje na primjeni akutne i visoke doze toksina. U svrhu imitiranja prirodne izloženosti mi smo razvili vlastiti model, koji se zasniva na primjeni svakodnevnih niskih doza kroz razdoblje od najmanje mjesec dana ( Žanić,1999; <https://www.bib.irb.hr/56377?rad=56377>).

## **2.7. UTJECAJ TOKSINA NA LJUDSKO ZDRAVLJE I PREVENCIJA**

Već je spomenuto da postoji nekoliko vrsta plijesni, a neke od njih u hranu otpuštaju otrove zvane mikotoksini, zbog kojih se s vremenom možemo prilično razboljeti. Izloženost tim toksinima povećava šanse da se oboli od cijelog niza zdravstvenih problema poput oštećenja bubrega, jetre, oslabljenog imunološkog sustava te da nam se poveća rizik od raka i neuroloških simptoma.

Mikotoksini su otrovi visoke akutne toksičnosti, a mogu imati kancerogena, mutagena, imunotoksična i teratogena svojstva zbog utjecaja na genetski materijal naših stanica (DNA i RNA) (Anonymus 1). Akutna i kronična oštećenja zdravlja izazvana mikotoksinima nazivaju se mikotoksikoze i mogu izazvati poremećaje čitavog niza sustava organizma (bubrežnog, krvožilnog, jetrenog, živčanog). Mikotoksikoze nisu uobičajene kod ljudi, posebice je rijetko akutno trovanje. Veća opasnost prijeti od kroničnih oštećenja pri dugotrajnoj izloženosti

mikotoksinima. U tablici 2 vidljive su moguće bolesti koje nastaju prekomjernom izloženosti mikotoksinima (Li i sur., 2010).

**Tablica 2** Bolesti ljudi koje se povezuju s unošenjem toksičnih količina mikotoksina (Katalenić, 2004)

Sistem	Zdravstveni problemi	Mikotoksini
krvotok	smanjena elastičnost žila, unutrašnja krvarenja	aflatoksini, satratoxini, roridini
digestivni sistem	proliv, povraćanje, krvarenje iz crijeva oštećenje jetre, nekroze, i brioze, rane na mukoznim membranama, anoreksija	aflatoksini, T-2 toksini, deoksinivalenol (vomitoksin)
respiratorni sistem	ozbiljne poteškoće s disanjem, krvarenje iz pluća	trikotehekeni
nervni sistem	drhtavica, nekoordinirani pokreti, depresija, glavobolja	tremogeni, trikotehekeni
koža	osip, fotosenzitivnost	trikotehekeni
urinarni sistem	oštećenje bubrega	ohratoksin, citrinin
reproduktivni sistem	sterilnost, promjene u reproduktivnim ciklusima	T-2 toksin, zearalenon
imuni sistem	promjene ili potpuno uništenje	mnogi mikotoksini

**Sustav obavještavanja o pojavi mikotoksina:** U Europi postoji RASFF sustav (Rapid Alert System for Food and Feed), tj. sustav brzog uzbunjivanja za hranu i hranu za životinje, a služi za obavještavanje o zdravstveno neispravnoj hrani i hrani za životinje u slučajevima direktnog i indirektnog rizika za ljudsko zdravlje koji potječe iz hrane i hrane za životinje. Tijekom 2012. g. u ovom sustavu bilo je 446 prijava mikotoksina u hrani iznad MDK i još 119 u hrani za životinje. Ukupan broj prijava zbog mikotoksina u hrani je u padu i to zahvaljujući padu broja prijava na aflatoksine. Mikotoksini se najčešće otkriju u orašastim plodovima (pistacio, kikiriki, bademi). Od svih prijava, lani je bilo svega 5 prijava aflatoksina u svježem mlijeku (4 iz Mađarske i 1 iz Slovenije). Ministarstvo poljoprivrede je nacionalna kontakt točka za RASFF sustav i obavještava potrošače o povlačenju i opozivu zdravstveno neispravnih proizvoda (Katalenić, 2004).

**Zakonska regulativa:** Hrvatska je među državama koje imaju najnižu MDK za aflatoksin M1 u mlijeku, a imamo među najnižima MDK i za ostale mikotoksine. Ovo područje regulirano je Pravilnikom o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (NN 146/12). Primjerice, MDK za aflatoksin M1 u mlijeku u Hrvatskoj je kao i u EU, a iznosi 0,05 µg/kg, dok je primjerice u SAD-u čak 10 puta viši i iznosi 0,5 µg/kg. Dakle, naša država je postavila znatno strože kriterije od američkih, što nam govori kako se odluka o MDK vrijednostima ne donosi samo na temelju znanstvenih i stručnih dokaza, već i kao politička odluka (Katalenić, 2004).

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. MATERIJALI

Uzorci na kojima su određivani **ukupni aflatoksini**:

- kikiriki pasta,
- orasi,
- mak

Uzorci na kojima je određivan **aflatoksin B1**:

- kikiriki pasta,
- orasi,
- mak

Uzorak za određivanje **ochratoksina**:

- bijeli kruh

Ostali uzorci na kojima se može vršiti analiza određivanja mikotoksina:

proizvodi od žitarica (kruh, peciva, keksi), suho voće, orašasti plodovi, mlinski proizvodi.

U postupku su korištene kemikalije metanol, destilirana voda, a od opreme bila je potrebna analitička vaga, Elisa čitač, tresilica, mikropipete, menzure, Erlenmayerove tikvice, stakleni lijevak, filter papir.

## **3.2. METODE**

Određivanje mikotoksina vrši se imunoenzimatskim ELISA testom.

### **3.2.1. Ukupni aflatoksini**

ELISA-eng., Enzyme-Linkedimmunosorbentassay ,OD-eng., Opticaldensity

Imunoenzimatski ELISA test je biokemijska tehnika kojom se određuje prisutnost antigena (mikotoksina) u analiziranom uzorku. Na stjenkama jažica mikrotitar pločice vezana su specifična antitijela. Dodavanjem uzoraka ili standardnih otopina u jažice, prisutni mikotoksin će se vezati na specifična antitijela na stjenkama jažica. Vezani antigen dokazuje se dodavanjem drugog specifičnog antitijela na koji je vezana peroksidaza (enzim konjugat). Bilo koji nevezani enzimski konjugat uklanja se ispiranjem, potom se u jažice dodaje enzimski supstrat i kromogen. Vezani enzimski konjugat pretvara bezbojni kromogen u plavo obojeni produkt. Dodatak stop reagensa dovodi do promjene boje iz plave u žutu. Intenzitet boje mjeri se na fotometru pri 450 nm.

Koncentracija ukupnih aflatoksina određuje se na osnovu izmjerene apsorpcije otopine uzorka u odnosu na apsorpciju standardne otopine poznate koncentracije. Iz baždarne krivulje se izračuna koncentracija ukupnih aflatoksina koja se izražava u mikrogramima/kg prema važećem pravilniku.

Za određivanje ukupnih aflatoksina korišten je kit Romerlabba „Total AflatoxinAssay“ u rasponu koncentracija 1-20 mikrograma/kg koji sadrži sve potrebne reagense i standarde za analizu aflatoksina.

U postupku su korištene kemikalije metanol, destilirana voda, a od opreme bila je potrebna analitička vaga, Elisa čitač, tresilica, mikropipete, menzure, Erlenmayerove tikvice, stakleni lijevak, filter papir.

#### **Postupak:**

Nakon homogenizacije uzorka odvaži se 20,0 g uzorka i doda 100 ml metanol: voda (70:30) u Erlenmayerovu tikvicu s brušenim grlom i čepom. Uzorak se stavi na tresilicu oko 3 min, pusti da se slojevi odvoje te profiltrira kroz filter papir Whatman 1. Poslije ekstrakcije uzorci se pripremaju pomoću komercijalno dostupnog kita za aflatoksine Romerlabs: Agraquant Total AflatoxinAssay. Pripreme se jažice sa zelenim obrubom za svaki standard i uzorak. Mikropipetom se otpipetira 0,1 mL konjugata te se doda 0,05 mL svakog standarda i uzorka



koristeći nove nastavke. Standardi i uzorci se promiješaju te se 0,1 mL prebaci u jažice s odgovarajućim antitijelima. Inkubacija traje 15 min. na sobnoj temperaturi (postupak je isti i za određivanje ochratoksina, osim što vrijeme inkubacije traje 10 min.). Nakon toga se sadržaj iz jažica baca, a jažice se ispiru destiliranom vodom. Postupak se ponovi 5 puta, a između svakog ispiranja jažice se trebaju osušiti tako da dno jažice ostane potpuno suho. U svaku jažicu se pipetira supstrat i inkubira na sobnoj temperaturi 5 min. Konverziju dodanog supstrata katalizira enzim iz aflatoksin-enzim konjugata i pri ovoj se reakciji razvija plavo obojenje ove otopine. Intenzitet obojenja otopine obrnuto je proporcionalan koncentraciji aflatoksina u uzorku.

Naime, obojenje otopine potječe iz enzimske reakcije koju katalizira enzim iz aflatoksin-enzim konjugata vezanog na antitijelo na površini jažice, a ne od aflatoksina iz uzorka koji ne sudjeluje u reakciji u kojoj se razvija plavo obojenje. Zatim se dodaje 0,1 ml stop otopine koja zaustavlja specifičnu kompetitivno imuno-kemijsku reakciju i pri tom se boja mijenja iz plave u žutu.

Intenzitet obojenja ili optička gustoća (OD) otopine se određuje pomoću čitača mikrotitar pločica i to pri valnoj duljini 450 nm. Vrijednost dobivena za OD uzorka uspoređi se s vrijednošću OD dobivenoj kod standardnih otopina i odredi koncentracija aflatoksina u uzorku.

### 3.2.2. Aflatoksin B1

Kod određivanja aflatoksina B1 tehnika i princip određivanja su isti kao kod prethodnih analiza. Aflatoksin B1 se određuje u istim proizvodima kao i kod određivanja ukupnih aflatoksina te u mlinskim proizvodima od žitarica. Za njegovo određivanje koristi se kit Romerlabsa „Aflatoksin B1 Assay“ u rasponu koncentracija 2-50 mikrograma/kg koji sadrži sve potrebne reagense i standarde za analizu aflatoksina.

#### Postupak

Sličan je postupku određivanja ukupnih aflatoksina. Razlika je što se filtrat razrijedi s puferском otopinom tako da se u 0,1 ml filtrata doda isto toliko puferске otopine.

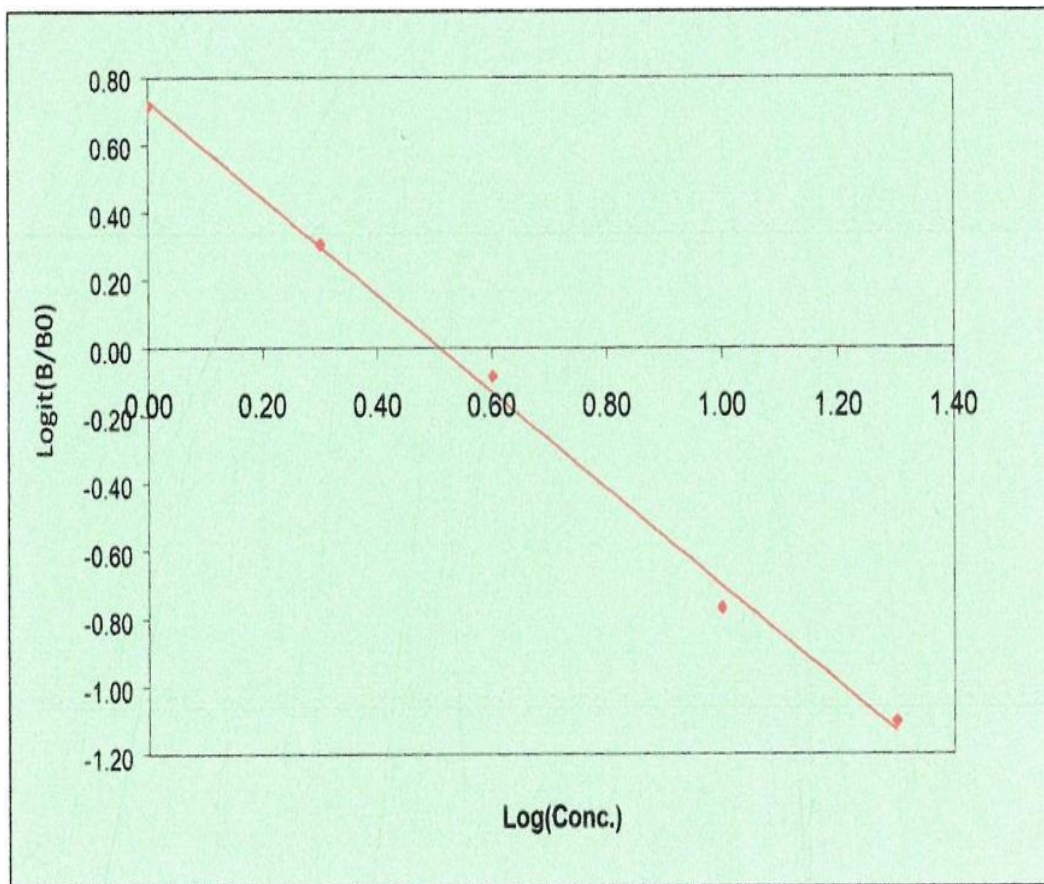
Koncentracija aflatoksina B1 koji se određuje ovom metodom kreće se u rasponu 2-50 ppb. Uzorci koji sadrže veću koncentraciju aflatoksina B1 dodatno se razrjeđuju 70%-tnim metanolom. U izračun se mora uključiti ukupno razrjeđenje.

**Račun:** Za izradu baždarne krivulje koriste se vrijednosti OD dobivene pomoću čitača mikrotitarskih pločica za 5 standardnih otopina (0, 2, 5, 20 i 50 ppb) podijeljene s OD vrijednostima standarda 0 ppb, izražene kao %. Negativan logaritam tih vrijednosti prenesen na os y, a na osi x nalazi se logaritam koncentracije standarda u ppb. Kako su koncentracije standarda poznate (u standardnim otopinama se nalazi zadana koncentracija određenih mikotoksina), interpolacijom se iz baždarne krivulje može odrediti koncentracija aflatoksina B1 (ukupnih aflatoksina i ochratoksina) u uzorcima koji se analiziraju.

## 4. REZULTATI

**Tablica 3** Rezultati analize određivanja ukupnih aflatoksina u kikiriki pasti, maku i orasima

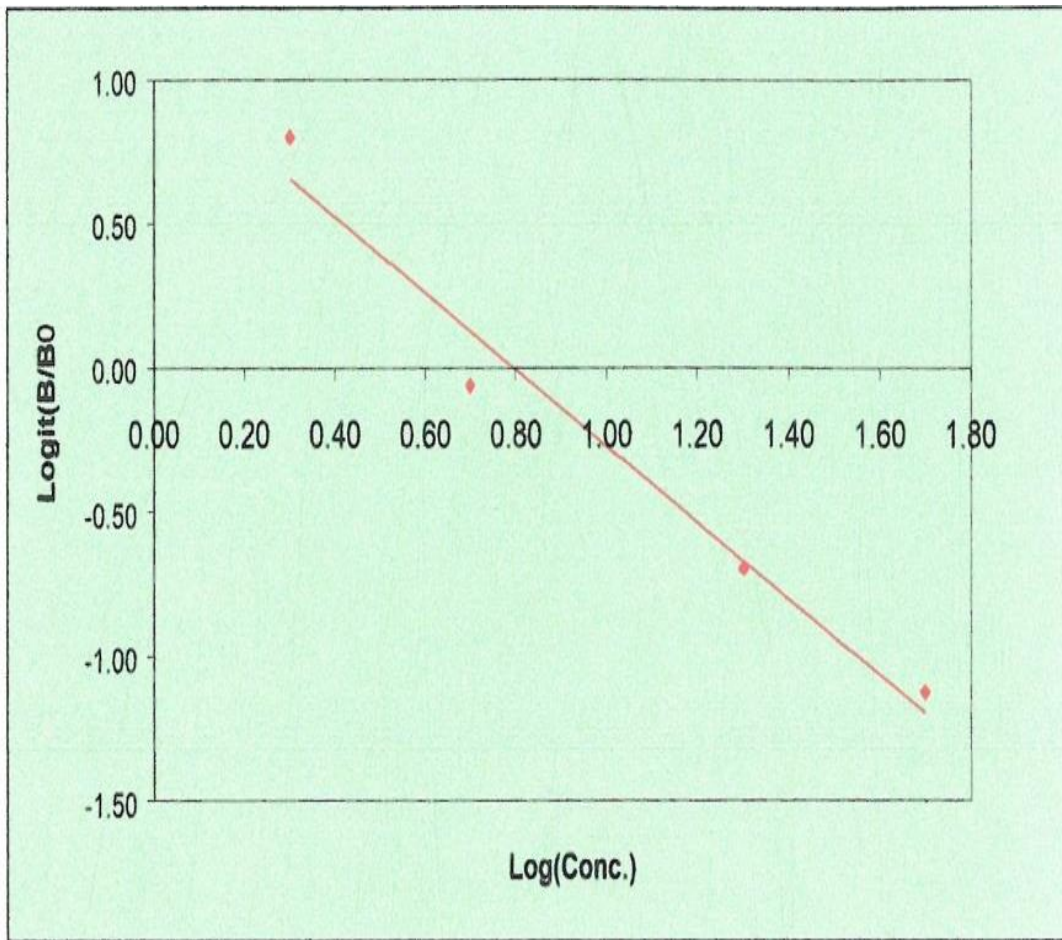
Broj jažice standardnih otopina	koncentracija standardne otopine (ppb)	rezultati vrijednosti OD
1	0	1.088
2	1.0	1.024
3	2.0	0.727
4	4.0	0.451
5	10.0	0.172
6	20.0	0.075
vrsta uzorka	koncentracija ukupnih aflatoksina (ppb)	
kikiriki pasta	0.44	1.026
orasi	6.83	0.277
mak	0.00	1.468



**Slika 1:** Baždarni dijagram za izračun koncentracije ukupnih aflatoksina iz uzoraka kikiriki paste, maka i oraha pomoću očitanih vrijednosti optičke gustoće (OD) čija se logaritamska vrijednost nalazi na osi y, i koncentracija standardnih otopina, čija se logaritamska vrijednost nalazi na osi x.

**Tablica 4** Rezultati analize određivanja aflatoksina B1 u uzorcima kikiriki paste, orasima i maku

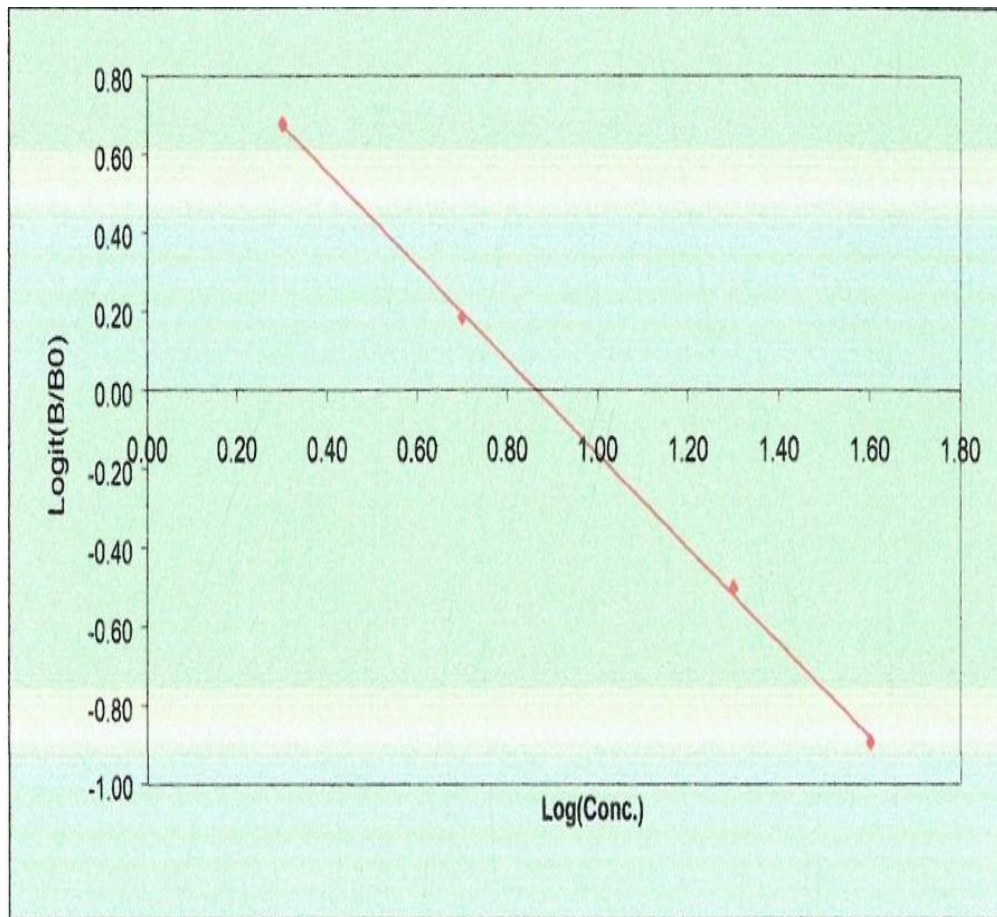
Broj jažice standardnih otopina	koncentracija standardne otopine (u ppb)	rezultati vrijednosti OD
1	0	1.189
2	2.0	1.026
3	5.0	0.552
4	20.0	0.199
5	50.0	0.083
vrsta uzorka	koncentracija aflatoksina B1 (ppb)	
kikiriki pasta	0.00	1.406
orasi	7.21	0.538
mak	0.00	1.572



**Slika 2:** Baždarni dijagram za izračun koncentracije aflatoksina B1 iz uzoraka kikiriki paste, maka i oraha pomoću očitanih vrijednosti optičke gustoće (OD) čija se logaritamska vrijednost nalazi na osi y, i koncentracija standardnih otopina, čija se logaritamska vrijednost nalazi na osi x.

**Tablica 5** Rezultati analize određivanja ochratoksina u uzorku bijelog kruha

Broj jažice standardnih otopina	koncentracija standardne otopine (ppb)	rezultati vrijednosti OD
1	0	0.38
2	2.0	0.314
3	5.0	0.23
4	20.0	0.091
5	40.0	0.043
vrsta uzorka	koncentracija ochratoksina (ppb)	
bijeli kruh	0.00	0.632
bijeli kruh	0.00	0.629
bijeli kruh	0.00	0.615



**Slika 3:** Baždarni dijagram za izračun koncentracije ochratoksina iz uzoraka kikiriki paste, maka i oraha pomoću očitanih vrijednosti optičke gustoće (OD) čija se logaritamska vrijednost nalazi na osi y, i koncentracija standardnih otopina, čija se logaritamska vrijednost nalazi na osi x.



## 5. RASPRAVA

Kod analize ukupnih aflatoksina u maku, aflatoksina B1 u kikiriki pasti i maku te kod analize ochratoksina u uzorku bijelog kruga, izračunata vrijednost koncentracije toksina iznosi 0.00 ppb-a, što znači da je u navedenim namirnicama izmjerena koncentracija ukupnih aflatoksina, aflatoksina B1 te ochratoksina manja od koncentracije najmanjeg standarda. Za ukupne aflatoksine manja je od 1.0 ppb, a za aflatoksine B1 i ochratoksine manja od 2.0 ppb.

Prema Prilogu Uredbe br.1881/2006 - o kontaminantima, najveće dopuštene količine ukupnih aflatoksina kod kikirikija koji se sortira ili drugačije fizikalno obrađuje prije uporabe za prehranu ljudi ili kao sastojak hrane, iznosi 15.0 ppb, a aflatoksina B1 8.0 ppb.

Usporedno tome, pošto je uzorak kikiriki paste prerađeni proizvod, kod kikirikija, orašastih plodova i njihovih prerađenih proizvoda za izravnu prehranu ljudi ili uporabu kao sastojak hrane, najveća dopuštena vrijednost ukupnih aflatoksina je 4.0 ppb, a aflatoksina B1 2.0 ppb, prema čemu vidimo da u analiziranim uzorcima kikiriki paste ima znatno manje navedenih toksina, vrijednost koncentracije ukupnih aflatoksina u analiziranim uzorcima kikiriki paste je 0.44 ppb, a aflatoksina B1 0.00.

Prema istom pravilniku, orašasti plodovi koji se sortiraju ili drugačije fizikalno obrađuju prije uporabe za prehranu ljudi ili kao sastojak hrane imaju najviše dopuštene vrijednosti ukupnih aflatoksina u vrijednosti 10.0 ppb, a aflatoksina B1 u vrijednosti 5.0 ppb te možemo zamijetiti kako u analiziranom uzorku oraha koncentracije aflatoksina B1 7.21 ppb dolazi do prijelaza najviše dopuštene vrijednosti koncentracije aflatoksina B1 za 2.21 ppb, a kod ukupnih aflatoksina, koncentracija u analiziranom uzorku im je za 3.17 ppb manja od najveće dopuštene koncentracije.

Najveća dopuštena vrijednost ukupnih aflatoksina za mak koji se drugačije fizikalno obrađuje prije uporabe za prehranu ljudi ili kao sastojak hrane je 10.0 ppb, a aflatoksina B1 5.0 ppb, te prema rezultatima obje analize (0.0 ppb) možemo uočiti da toksina praktički nema.

Kod analize ochratoksina, prema navedenom pravilniku svi proizvodi dobiveni iz neprerađenih žitarica, uključujući prerađene proizvode od žitarica i žitarice za izravnu prehranu ljudi imaju najveću dopuštenu koncentraciju ochratoksina u vrijednosti 3.0 ppb, što koncentracije ochratoksina u analiziranim uzorcima bijelog kruha od 0.0 ppb definitivno ne prelaze.

## 6. ZAKLJUČCI

Prema provedenim analizama ukupnih aflatoksina, aflatoksina B1 i ochratoksina možemo zaključiti da se navedeni toksini u značajnijoj koncentraciji rijetko pojavljuju kod gotovih prerađenih proizvoda kao što su kikiriki pasta, mak i bijeli kruh, a kod orašastih proizvoda se mogu zamijetiti više koncentracije, kao što je bio slučaj sa analiziranim orasima.

U analiziranom uzorku oraha koncentracije aflatoksina B1 7.21 ppb dolazi do prijelaza najviše dopuštene vrijednosti koncentracije aflatoksina B1 za 2.21 ppb, a kod ukupnih aflatoksina, koncentracija u analiziranom uzorku im je za 3.17 ppb manja od najveće dopuštene koncentracije.

Do porasta razvoja toksina moglo je doći prilikom nepravilnog skladištenja u vlažnim uvjetima koji su pogodni za razvitak plijesni, a time i njihovih toksina.

## 7. LITERATURA

ANONYMUS (1) <https://www.index.hr/magazin/clanak/Toksini-kojima-trujemo-organizam-Koji-otrovi-vrebaju-iz-namirnica/665494.aspx>, (pristupljeno 24.08.2019.)

ANONYMUS (2) <https://hr.wikipedia.org/wiki/Kruh>, (pristupljeno 25.08.2019.)

ANONYMUS (3) <https://hr.wikipedia.org/wiki/Mak>, (pristupljeno 24.08.2019.)

ANONYMUS (4) <https://hr.wikipedia.org/wiki/Kikiriki>, (pristupljeno 26.08.2019.)

ANONYMUS (5) <https://hr.wikipedia.org/wiki/Plijesan>, (pristupljeno 24.08.2019.)

DECASTELLI L., LAI J., GRAMAGLIA M., MONACO A., NACHTMANN C., OLDANO F., RUFFER M., SEZIAN A., BANDIROLA C. (2007) : Aflatoxins occurrence in milk and feed in Northern Italy during 2004–2005. *Food Control*, 18, 1263–1266.

EVAN E. BOLTON, YANLI W, PAUL A. THIESSEN, STEPHEN H. BRYAN T. (2008): "Chapter 12 PubChem: Integrated Platform of Small Molecules and Biological Activities". *Annual Reports in Computational Chemistry* 4: 217–241.

GAULTON A, BELLIS LJ, BENTO A P, CHAMBERS J, DAVIES M, HERSEY A, LIGHT Y, MCGLINCHEY S, MICHALOVICH D, AL-LAZIKANI B, OVERINGTON J P. (2012): "ChEMBL: a large-scale bio activity database for drug discovery". *Nucleic Acids Res* 40 (Data base issue).

HETTNE K. M, WILLIAMS A. J, VAN MULLIGEN E. M, KLEINJANS J, TKACHENKO V, KORS J A. (2010): "Automatic vs. manual curation of a multi-source chemical dictionary: the impact on text mining". *J Chem Inform* 2 (1): 3. PMID 20331846. doi:10.1186/1758-2946-2-3.

KATALENIĆ, M. (2004): Toksini Fusarium plijesni i drugi toksini (I. dio). *MESO: Prvi hrvatski časopis o mesu*, VI (5), 31-35. Preuzeto s <https://hrcak.srce.hr/21569> (pristupljeno 24.08.2019.)

KULIER I. (2013): Što i kako jedemo-Sve je pod kontrolom?, Ulis, Rijeka, ISBN 978-953-7306-89-2

KOVAČEVIĆ, V., RASTIJA, M. (2014) : Žitarice. Sveučilište J. J. Strossmayera, Osijek.

LI Q, CHENG T, WANG Y, BRYANT S H. (2010): "PubChem as a public resource for drug discovery.". *Drug Discov Today* **15** (23-24): 1052–7.

MAHONEY, N., RUSSELL J., MOLYNEU X (2010): "A Rapid Analytical Method for Determination of Aflatoxins in Plant-Derived Dietary Supplement and Cosmetic Oils". *J Agric Food Chem.* **58** (7): 4065–70.

PLEADIN, J., FRECE, J., MARKOV, K., (2014) : Aflatoksini - Onečišćenje, učinci i metode redukcije, *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition* 9 (3-4), 75-82.

SANTIN E. (2005) : Mould growth and mycotoxin production. U: *Mycotoxin blue book*, 225-234 Nottingham, University Press, United Kingdom.

REDDY K. R. N., ABBAS H. K., ABEL C. A., SHIER W. T., OLIVEIRA C. A. F., RAGHAVENDER C. R. (2009) : Mycotoxin contamination of commercially important agricultural commodities. *Toxin Reviews*, 28, 154-168.

Prilog Uredbe br.1881/2006-o kontaminantima, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/hr/TXT/?uri=CELEX:32006R1881>, (pristupljeno 13.09.2019.)

Radne upute iz arhiva Nastavnog Zavoda za javno zdravstvo PGŽ

ŽANIĆ, GRUBUŠIĆ, T. (1999.): Endemska nefropatija: životinjski model induciran okratoksinom A // *Biochemia Medica* / Suchanek, Ernest (ur.). Zagreb: Hrvatsko društvo medicinskih biokemičara, <https://www.bib.irb.hr/56377>, (pristupljeno 23.08.2019.)