

# Kvantitatívne stanovenie vomitoxínu v jačmeni siatom

Michaela Harčárová<sup>1</sup>  
Pavel Nad<sup>2</sup>  
Andrej Marcin<sup>3</sup>  
Alena Hreško Šamudovská<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach; Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; michaela.harcarova@uvlf.sk

<sup>2</sup> Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach; Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; pavel.nad@uvlf.sk

<sup>3</sup> Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach; Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; andrej.marcin@uvlf.sk

<sup>4</sup> Katedra výživy a chovu zvierat, Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach; Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika; alena.hreskosamudovska@uvlf.sk

Grant: VEGA č. 1/0698/24; KEGA č. 006UVLF-4/2022

Název grantu: Sledovanie účinku kŕmnych doplnkových látok prírodného pôvodu a alternatívnych kŕmnych komponentov na produkciu a zdravie monogastrických zvierat; Štúdijné texty a virtuálne laboratórium pre e-vzdelávanie v oblasti technológií a bezpečnostných systémov pri výrobe krmív

Oborové zamčrení: GH - Výživa hospodárskych zvierat

© GRANT Journal, MAGNANIMITAS Assn.

**Abstrakt** Vhodný substrát pre rast mikroskopických vláknitých húb a následnú syntézu ich sekundárnych metabolitov predstavujú obilniny. Obilniny sú zároveň základnou zložkou kompletných krmív pre rôzne druhy zvierat. Medzi najvýznamnejšie obilniny patrí okrem iných druhov jačmeň. Táto práca bola zameraná na stanovenie vomitoxínu v 46 vzorkách jačmeňa. Výskyt vomitoxínu bol zaznamenaný v 4 vzorkách (8,7 %) v rozsahu koncentrácií 0,019 – 1,501 mg.kg<sup>-1</sup> a priemerná koncentrácia vomitoxínu bola 0,037 ± 0,005 mg.kg<sup>-1</sup>. Výsledné hladiny vomitoxínu spĺňajú aktuálne právne normy v súvislosti s odporúčanými hodnotami vomitoxínu v krmivách a nepredstavujú riziko vzniku akútnych zdravotných komplikácií zvierat.

**Kľúčová slova** Obilniny, mykotoxíny, bezpečnosť krmív

## 1. ÚVOD

Jačmeň siaty (*Hordeum vulgare*) je jednoročná obilnina, patrí do čeľade lipnicovité (*Poaceae*) a pestuje sa v jarnej a ozimnej forme. V krmovinárstve sa používa ako komponent v kŕmnych zmesiach pre všetky druhy hospodárskych zvierat (Punia, 2020). V pekárskom priemysle sa pre nízky obsah lepku nepoužíva a v potravinárstve slúži predovšetkým na výrobu sladú (Rani a Bhardwaj, 2021). Z nutričného hľadiska obsahuje sacharidy (80 %), β-glukány (3,7 – 7,7 %), bielkoviny (11,5 – 14,2 %), lipidy (4,7 – 6,8 %) a popol (1,8 – 2,4 %). Jačmeň je bohatým zdrojom škrobu, až 70 % v sušine (Asare a kol., 2011). Počas pestovania, zberu a skladovania býva pri obilninách riziko ich kontaminácie prostredníctvom mikroskopických vláknitých húb, ktoré sú zdrojom sekundárnych metabolitov, mykotoxínov. Vomitoxín (syn. deoxynivalenol) patrí medzi najčastejšie sa vyskytujúce mykotoxíny v obilných zrnách ako je jačmeň. Prítomnosť vomitoxínu negatívne ovplyvňuje nutričné hodnoty zrna, býva príčinou strát na výnosoch a spôsobuje zdravotné komplikácie ľuďom a zvieratám (Feizollahi a kol., 2023).

Vomitoxín patrí medzi trichotecény a je produkovaný za vlhkého a chladnejšieho počasia (Streit a kol., 2012), a to predovšetkým mikroskopickou hubou *Fusarium graminearum* a v niektorých oblastiach druhom *Fusarium culmorum* (Kharayat a Singh, 2018). Skrmovanie vomitoxínom znehodnoteného krmiva môže byť príčinou vzniku mykotoxikózy. Názov vomitoxín súvisí s najčastejším klinickým príznakom, ktorý sa pri tejto otrave objavuje, a to je vomitus. Medzi ďalšie príznaky patrí odmietanie krmiva, s tým súvisiace straty na prírastkoch a celkovo postihnuté jedince neprosievajú. Okrem toho vomitoxín spôsobuje lézie na gastrointestinálnom trakte, krvavé hnačky a v niektorých prípadoch ťažkú dermatitídu sprevádzanú krvácaním (Yue a kol., 2021). Vomitoxín pôsobí imunosupresívne, má teratogénne účinky a vykazuje reprodukčnú toxicitu (Malíř, 2011). Z hľadiska druhej citlivosti na toxické účinky vomitoxínu sú najcitlivejšie ošípané, nasleduje hydina a najmenej senzitivným druhom sú prežúvavce. Ich odolnosť voči negatívnym účinkom vomitoxínu sa pripisuje schopnosti bacherovej mikroflóry detoxikovať tento mykotoxín (Sobrova a kol., 2010). Postihnuté môžu byť aj iné druhy zvierat vrátane psov a mačiek a citlivosť na vomitoxín sa môže líšiť v závislosti od pohlavia a veku (Hughes a kol., 1999).

V súvislosti s fyzikálno-chemickými vlastnosťami vomitoxínu je najvýznamnejšia jeho termostabilita. Uvádza sa, že zostáva stabilný aj pri teplote od 170 do 350 °C a žiadny pokles jeho koncentrácie nebol zaznamenaný ani po 30 minútovej expozícii pri teplote 170 °C (Sobrova a kol., 2010). Avšak koncentrácie vomitoxínu môžu byť znižované prostredníctvom varenia, pretože vomitoxín je rozpustný, okrem iných rozpúšťadiel, aj vo vode (Awuchi a kol., 2021). V súvislosti s jeho odolnosťou voči teplotám je rizikový jeho rýchly vstup do potravinového reťazca, práve preto je dôležité sledovať koncentrácie vomitoxínu v potravinách a krmivách. V súčasnej dobe sa Slovenská republika riadi Nariadením Komisie (ES) č. 1881/2006 z 19. decembra 2006, ktorým sa ustanovujú maximálne hodnoty obsahu niektorých kontaminantov v potravinách a Odporúčaním Komisie zo 17. augusta 2006 o prítomnosti deoxynivalenolu, zearalenónu, ochratoxínu A, T-2 a HT-2 a fumonizínov vo výrobkoch určených na krmivo pre zvieratá.

Cieľom tejto práce bolo zistiť výskyt a koncentrácie vomitoxínu vo vzorkách jačmeňa prostredníctvom imunoenzymatickej analýzy a porovnať výsledky s aktuálne platnou legislatívou v súvislosti s obsahom mykotoxínov v krmivách.

## 2. MATERIÁL A METODIKA

### 2.1 Príprava a spracovanie vzoriek

V našej práci bolo vyšetrených celkovo 46 vzoriek jačmeňa (na kŕmne účely), ktoré boli získané z rôznych predajných skladov z územia východného Slovenska. Každá vzorka bola odobratá v množstve 500 g. Vzorky boli spracované podľa protokolu Veratox for deoxynivalenol 5/5 (Neogen Corporation, Lansing, USA). Spracovanie vzoriek prebiehalo po ich zhomogenizovaní. Desať gramov každej vzorky bolo pomletých a následne bolo ku vzorkám pridaných 100 ml destilovanej vody. Extrakcia vomitoxínu prebiehala počas 3 minútového pretrepávania vzoriek pomocou orbitálnej trepačky (Orbital Shaker-Biosan). Vzorky boli následne prefiltrované cez filtračný papier Whatman 1 (Cytiva, Kent, UK) a filtráty boli použité na stanovenie vomitoxínu ELISA analýzou.

### 2.2 ELISA analýza

Postup ELISA analýzy bol vykonaný podľa vyššie spomenutého protokolu Veratox for deoxynivalenol 5/5. Koncentrácie vomitoxínu (ppm/mg.kg<sup>-1</sup>) boli odčítané pomocou kalibračnej krivky s použitím štandardov (0; 0,25; 0,5; 1; a 2 ppm/mg.kg<sup>-1</sup>) pri vlnovej dĺžke 650 nm pomocou spektrofotometra Dynex (Dynex Technologies, Inc., Chantilly, USA).

### 2.3 Štatistická analýza

Na vyhodnotenie priemernej hodnoty koncentrácií a štandardnej chyby priemeru (SEM) boli použité štatistické funkcie programu MS Excel.

## 3. VÝSLEDKY

Prítomnosť a koncentrácie vomitoxínu stanovené pomocou ELISA testu sú uvedené v tabuľke č. 1. Výskyt vomitoxínu bol potvrdený v 4 vzorkách z celkového počtu 46 vzoriek (8,7 %). Koncentrácie vomitoxínu boli v rozpätí od 0,019 do 1,501 mg.kg<sup>-1</sup> s priemernou hodnotou koncentrácií 0,037 ± 0,005 mg.kg<sup>-1</sup>. Výsledné koncentrácie vomitoxínu vo vyšetrených vzorkách jačmeňa spĺňajú aktuálne právne normy v súvislosti s obsahom mykotoxínov v krmivách a kŕmnych surovinách.

Tabuľka 1 Prítomnosť vomitoxínu vo vzorkách jačmeňa

| Druh obilniny | Vomitoxín |       |  |                              |
|---------------|-----------|-------|--|------------------------------|
|               | n/n*      | I (%) | Rozsah koncentrácií (mg.kg <sup>-1</sup> ) | x±SEM (mg.kg <sup>-1</sup> ) |
| Jačmeň siaty  | 46/4      | 8,7   | 0,019–1,501                                | 0,037±0,005                  |

n – celkový počet vzoriek, n\* – počet vzoriek s výskytom vomitoxínu, I – incidencia vomitoxínu, x – priemerná hodnota koncentrácií, SEM – štandardná chyba priemeru

## 4. DISKUSIA

Jačmeň siaty je dôležitou obilninou, ktorá sa okrem iného pestuje za účelom získania zrna ako komponentu do kompletných kŕmnych zmesí pre hospodárske zvieratá (Stanca a kol., 2016). Už počas rastu na poli predstavuje jačmeň, ako aj iné druhy obilnín, vhodný

substrát pre rast mikroskopických vláknitých húb. Medzi najvýznamnejšie druhy tzv. „poľných“ húb patrí rod *Fusarium*. Potenciálne toxínogénne druhy rodu *Fusarium* sú schopné za vhodných klimatických podmienok syntetizovať mykotoxíny. Poľnohospodársky najdôležitejším fuzáriotoxínom je celosvetovo rozšírený vomitoxín (Ferrigo a kol., 2016).

V nami vyšetrených vzorkách sme potvrdili prítomnosť vomitoxínu v 4 vzorkách jačmeňa z celkového počtu 46 vzoriek (8,7 %) s priemernou koncentráciou 0,037 mg.kg<sup>-1</sup>. Vyšší počet vzoriek jačmeňa (82,4 %), v ktorých bol detegovaný vomitoxín bol zaznamenaný vo Fínsku a jeho maximálna koncentrácia dosahovala 1,180 mg.kg<sup>-1</sup> (Nathanail a kol., 2015). Až 100 % výskyt vomitoxínu vo vzorkách jačmeňa bol hlásený z Litvy v roku 2004, kde maximálna koncentrácia vomitoxínu bola 0,198 mg.kg<sup>-1</sup>. V nasledujúcom roku 2005 bolo z Litvy hlásených len 93,3 % pozitívnych vzoriek jačmeňa s maximálnym obsahom vomitoxínu 0,372 mg.kg<sup>-1</sup> (Mankevičienė a kol., 2007). Podvýsledkov európskeho monitoringu mykotoxínov v potravinách a krmivách, vomitoxínom bola najviac kontaminovaná pšenica a kukurica s priemernými hladinami vomitoxínu 0,300 mg.kg<sup>-1</sup>; resp. 1,500 mg.kg<sup>-1</sup>, potom nasledoval ovos s priemernou koncentráciou vomitoxínu 0,150 mg.kg<sup>-1</sup> a jačmeň bol až štvrtou najčastejšie kontaminovanou obilninou a hladiny vomitoxínu dosahovali úroveň v priemere 0,500 mg.kg<sup>-1</sup> (EFSA, 2013).

Je potrebné poznamenať, že výsledné koncentrácie v nami vyšetrených vzorkách jačmeňa sú v súlade s Odporúčaním Komisie zo 17. augusta 2006 o prítomnosti deoxynivalenolu, zearalenónu, ochratoxínu A, T-2 a HT-2 a fumonizínov vo výrobkoch určených na kŕmivo pre zvieratá a nepredstavujú riziko vzniku akútnej mykotoxikózy zvierat.

## 5. ZÁVER

Dodržiavanie správnej poľnohospodárskej praxe a ostatných preventívnych opatrení v súvislosti s výskytom mikroskopických vláknitých húb a ich metabolitov v poľnohospodárskych plodinách úplne nezabráni ich prítomnosti. Okrem toho je potrebné vykonávať pravidelný monitoring mykotoxínov v krmovinách a krmivách. V neposlednom rade je vhodné sledovať aktuálne právne normy a odporúčania v rámci správneho manažmentu maximálnych povolených limitov mykotoxínov

### Zdroje

- ASARE, E. K., JAISWAL, S., MALEY, J., BÅGA, M., SAMMYNAIKEN, R., ROSSNAGEL, B. G., CHIBBAR, R. N. *Barley grain constituents, starch composition, and structure affect starch in vitro enzymatic hydrolysis* Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2011, 59, 9, 4743-4754. DOI: 10.1021/jf200054e.
- AWUCHI, C. G., ONDARI, E. N., OGBONNA, C. U., UPADHYAY, A. K., BARAN, K., OKPALA, C. O. R., KORZENIOWSKA, M., GUINÉ, R. P. F. *Mycotoxins Affecting Animals, Foods, Humans, and Plants: Types, Occurrence, Toxicities, Action Mechanisms, Prevention, and Detoxification Strategies-A Revisit*. Foods. 2021, 10, 6, 1279. DOI: 10.3390/foods10061279.
- COMMISSION REGULATION (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Dostupné na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SK/ALL/?uri=CELEX%3A32006R1881>
- EUROPEAN COMMISSION (EC). Commission Recommendation 576/2006/EC of 17 August 2006 on the

- presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding. Dostupné na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SK/AL/L/?uri=CELEX%3A32006H0576>
5. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. *Deoxynivalenol in food and feed: occurrence and exposure*. EFSA Journal. 2013, 11, 10, 3379, 56. DOI: 10.2903/j.efsa.2013.3379.
  6. FEIZOLLAHI, E., JEGANATHAN, B., REIZ, B., VASANTHAN, T., ROOPESH, M. S. *Reduction of deoxynivalenol during barley steeping in malting using plasma activated water and the determination of major degradation products*. Journal of Food Engineering, 2023, 352, 111525. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2023.111525.
  7. FERRIGO, D., RAIOLA, A., CAUSIN, R. *Fusarium Toxins in Cereals: Occurrence, Legislation, Factors Promoting the Appearance and Their Management*. Molecules. 2016, 21, 5, 627. DOI: 10.3390/molecules21050627.
  8. HUGHES, D. M., GAHL, M. J., GRAHAM, C. H., GRIEB, S. L. *Overt signs of toxicity to dogs and cats of dietary deoxynivalenol*. Journal of Animal Science. 1999, 77, 693-700. DOI: 10.2527/1999.773693x.
  9. KHARAYAT, B. S., SINGH, Y. *Mycotoxins in foods: Mycotoxicoses, detection, and management*. Microbial contamination and food degradation. Academic Press. 2018, 395-421. DOI: 10.1016/B978-0-12-811515-2.00013-5.
  10. MAGNOLI, A. P., POLONI, V. L., CAVAGLIERI, L. (2019). *Impact of mycotoxin contamination in the animal feed industry*. Current Opinion in Food Science. 2019, 29, 99-108. DOI: 10.1016/j.cofs.2019.08.009.
  11. MALÍŘ, F. *Toxicita mykotoxínů*. Mikroskopické vláknité huby a mykotoxíny v potravinách a krmivách, Košice: Viena s. r. o. 2011, s. 234. ISBN 978-80-8077-252-9.
  12. MANKEVICIENE, A., BUTKUTE, B., DABKEVICIUS, Z., SUPRONIENE, S. *Fusarium mycotoxins in Lithuanian cereals from the 2004-2005 harvests*. Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 2007, 14,1, 103-107.
  13. NATHANAIL, A.V., SYVÄHUOKO, J., MALACHOVÁ, A., JESTOI, M., VARGA, E., MICHLMAYR, H., ADAM, G., SIEVILÄINEN, E., BERTHILLER, F., PELTONEN, K. *Simultaneous determination of major type A and B trichothecenes, zearalenone and certain modified metabolites in Finnish cereal grains with a novel liquid chromatography-tandem mass spectrometric method*. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2015, 407, 4745-4755. DOI: 10.1007/s00216-015-8676-4.
  14. PUNIA, S. *Barley starch: Structure, properties and in vitro digestibility-A review*. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 155, 868-875. DOI: 10.1016/J.IJBIOMAC.2019.11.219.
  15. RANI, H., BHARDWAJ, R. D. *Quality attributes for barley malt: "The backbone of beer"*. Journal of Food Science. 2021, 86, 8, 3322-3340. DOI: 10.1111/1750-3841.15858.
  16. SOBROVA, P., ADAM, V., VASATKOVA, A., BEKLOVA, M., ZEMAN, L., KIZEK, R. *Deoxynivalenol and its toxicity*. Interdisciplinary Toxicology. 2010, 3, 94-99. DOI: 10.2478/v10102-010-0019-x.
  17. STANCA, A. M., GIANINETTI, A., RIZZA, F., TERZI, V. *Barley: an overview of a versatile cereal grain with many food and feed uses*. Encyclopedia of Food Grains (Second Edition). 2016, 147-152. DOI: 10.1016/B978-0-12-394437-5.00021-8.
  18. STREIT, E., SCHATZMAYR, G., TASSIS, P., TZIKA, E., MARIN, D., TARANU, I., TABUC, C., NICOLAU, A., APRODU, I., PUEL, O., OSWALD, I. P. *Current situation of mycotoxin contamination and co-occurrence in animal feed-focus on Europe*. Toxins (Basel). 2012, 4, 10, 788-809. DOI: 10.3390/toxins4100788.
  19. YUE, J., GUO, D., GAO, X., WANG, J., NEPOVIMOVA, E., WU, W., KUCA, K. *Deoxynivalenol (Vomitoxin)-Induced Anorexia Is Induced by the Release of Intestinal Hormones in Mice*. Toxins. 2021, 13, 512. DOI:10.3390/toxins13080512.