

Mikotoksini i utjecaj klimatskih promjena na njihovu produkciju

Kuveždić, Tena

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:917980>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



MIKOTOKSINI I UTJECAJ KLIMATSKIH PROMJENA NA NJIHOVU PRODUKCIJU

DIPLOMSKI RAD

Tena Kuveždić

Zagreb, rujan, 2020.



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



Diplomski studij:

Agroekologija

MIKOTOKSINI I UTJECAJ KLIMATSKIH PROMJENA NA NJIHOVU PRODUKCIJU

DIPLOMSKI RAD

Tena Kuveždić

Mentor:

izv.prof.dr.sc. Mirna Mrkonjić Fuka

Zagreb, rujan, 2020.



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



IZJAVA STUDENTA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Tena Kuveždić**, JMBAG 181437777, rođen/a 17.08.1995. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

MIKOTOKSINI I UTJECAJ KLIMATSKIH PROMJENA NA NJIHOVU PRODUKCIJU

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta / studentice



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



IZVJEŠĆE O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta/ice **Tene Kuveždić**, JMBAG 181437777, naslova

MIKOTOKSINI I UTJECAJ KLIMATSKIH PROMJENA NA NJIHOVU PRODUKCIJU

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

- | | | | |
|----|---------------------------------------|--------|-------|
| 1. | Izv. prof. dr.sc. Mirna Mrkonjić Fuka | mentor | _____ |
| 2. | Izv. prof. dr.sc. Marko Vinceković | član | _____ |
| 3. | Doc. dr. sc. Marija Duvnjak | član | _____ |

Zahvala

Ovime zahvaljujem svojoj obitelji i prijateljima na bezuvjetnoj podršci koju su mi pružali tokom studiranja i pisanja diplomskog rada, također zahvaljujem mojoj mentorici Izv. prof. dr.sc. Mirni Mrkonjić Fuki na stručnoj pomoći, strpljenju, vodstvu i izuzetnoj susretljivosti pri izradi ovog diplomskog rada.

Posebno hvala mojoj najboljoj prijateljici Karli na danim lektorskim savjetima, slušanju žalopojki i motivaciji koju mi je dala stoga joj posvećujem ovaj diplomski rad.

Sadržaj

1.	Uvod	1
2.	Mikotoksini i mikotoksikoze.....	2
3.	Najznačajnije mikotoksikotvorne plijesni i njihovi mikotoksini.....	5
3.1.	Rod <i>Aspergillus</i>	8
3.1.1.	Aflatoksini.....	9
3.2.	Rod <i>Penicillium</i>	11
3.2.1.	Okratoksini (OTA).....	11
3.2.2.	Citrinin	13
3.3.	Rod <i>Fusarium</i>	14
3.3.1.	Fumonizin	15
3.3.2.	Zearalenon (ZEA).....	17
3.3.3.	Deoksinivalenol (DON).....	18
3.4.	Čimbenici koji utječu na rast mikotoksigenih plijesni i produkciju mikotoksina	19
4.	Analitičko određivanje mikotoksina	22
4.1.	Podjela analitičkih metoda.....	23
4.1.1.	Imunoenzimska metoda	24
4.1.2.	Kromatografske metode	24
4.1.3.	Brzi testovi	25
5.	Suzbijanje i prevencija nastanka mikotoksina.....	27
5.1.	Fizikalne metode.....	27
5.2.	Kemijske metode	28
5.3.	Biološke metode	29
6.	Klimatske promjene	31
6.1.	Utjecaj klimatskih promjena na poljoprivredu	32
7.	Utjecaj klimatskih promjena na produkciju mikotoksina	35

7.1. Utjecaj čimbenika klimatskih promjena na rast plijesni i produkciju mikotoksina	36
7.2. Utjecaj klimatskih promjena na produkciju aflatoksina	38
7.3. Utjecaj klimatskih promjena na produkciju okratoksina.....	39
7.4. Fuzarijski mikotoksini i fuzarijska palež klasova	40
8. Zaključak.....	41
9. Popis literature	42
Životopis	49

Sažetak

Diplomskog rada studenta/ice **Tene Kuveždić**, naslova

MIKOTOKSINI I UTJECAJ KLIMATSKIH PROMJENA NA NJIHOVU PRODUKCIJU

Mikotoksini su toksični sekundarni metaboliti plijesni koji kontaminiraju usjeve diljem svijeta te čine velike štete u gospodarstvu. U svijetu je poznato oko 400 vrsta plijesni koje uzrokuju mikotoksikoze - različite bolesti u ljudi i životinja. Sinteza mikotoksina povezana je s određenim ekološkim uvjetima od kojih su temperatura, oborine i vlaga ključni čimbenici za produkciju toksina. Zbog klimatskih promjena, ovi čimbenici se drastično mijenjaju pa se posljedično narušavaju poznati obrasci sinteze mikotoksina čime se dovodi u pitanje sigurnost proizvodnje hrane u budućnosti. Mikotoksikogene plijesni imaju sposobnost prilagodbe na nove klimatske uvjete stoga bi u sljedećih 20 godina kontaminacija mikotoksikogenim plijesnima mogla zadati velike probleme u poljoprivredi i osiguranju zdravstvene ispravnosti hrane. Aflatoksini, postat će potencijalna opasnost u umjerenom klimatskom pojasu, dok bi u tropskim krajevima mogli potpuno nestati zbog previsokih temperatura. S druge strane, fuzarijski mikotoksini koji su karakteristični za umjereni pojas mogli bi se pojaviti u sjevernim predjelima svijeta gdje će činiti velike štete na žitaricama i kukuruzu.

Ključne riječi: mikotoksini, plijesni, klimatske promjene

Summary

Of the master's thesis – student **Tena Kuveždić**, entitled

MYCOTOXINS AND INFLUENCE OF CLIMATE CHANGES ON THEIR PRODUCTION

Mycotoxins are toxic secondary metabolites of molds which are contaminating crops around the world thus causing immense damage to the global economy. There are approximately 400 kinds of molds known in the world causing mycotoxicosis – different diseases to humans and animals. Synthesis of mycotoxins is connected with certain ecological conditions out of which temperature, precipitation and moisture are key factors for toxins production. Due to climate changes, these factors change drastically; therefore known patterns of mycotoxins synthesis are disturbed, bringing safety of the food production into question. Mycotoxigenic molds have the ability to adapt to new climatic conditions, so in the next 20 years, contamination of mycotoxigenic molds could become a major problem in agriculture and food safety. Aflatoxins would become a potential danger in moderate temperature zone while in the tropics they could disappear completely due to too high temperatures. On the other hand, fusarium mycotoxins which are characteristic for the moderate temperature zone could occur in northern regions of the world where they will cause great damage to cereals and corn.

Keywords:mycotoxins, molds, climate changes

1. Uvod

Riječ mikotoksin potječe iz grčke riječi „*mices*“ (gljiva) i latinske riječi „*toksicum*“ (otrov). Mikotoksini su sekundarni metaboliti mikotoksikogenih plijesni koji nastaju kao njihov odgovor na stresne okolišne uvjete, a kod ljudi i životinja izazivaju bolesti – mikotoksikoze. Plijesni su sveprisutne u prirodi, pojavljuju se u hrani biljnog i životinjskog porijekla, a u zraku su prisutne u obliku spora. Čovjek koristi plijesni u proizvodnji sira, kobasica te u farmaceutskoj industriji za proizvodnju antibiotika penicilina koji je revolucionirao liječenje infekcija. No s druge strane spektra nalaze se toksični metaboliti plijesni poput mikotoksina, koji osim što mogu imati negativne posljedice na ljudsko zdravlje, imaju negativne posljedice i na gospodarstvo.

Metabolizam plijesni pod utjecajem je različitih fizikalnih, kemijskih i bioloških faktora, a s produkcijom mikotoksina najčešće se povezuju rodovi plijesni *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Alternaria* i *Cladosporium*.

Kontaminacija mikotoksinima može nastupiti prije žetve u polju, ali i poslije žetve u procesima prerade i skladištenja, što znači da će se kontaminacija može proširiti kroz cijeli prehrambeni lanac. Hrana kontaminirana mikotoksinima može izazvati ozbiljne zdravstvene tegobe kod ljudi i životinja te je stoga nužna kontrola zdravstvene ispravnosti hrane u čitavom prehrambenom lancu. U kontroli hrane nužne su pouzdane i osjetljive metode detekcije mikotoksina, a u slučaju kontaminacije usjeva ili namirnica može se koristiti neka od fizikalnih, kemijskih ili bioloških metoda za njihovo uklanjanje. Navedene metode mogu se koristiti i u prevenciji kontaminacije, a pri odabiru metode važno je da metoda ne narušava nutritivnu vrijednost namirnice, organoleptička svojstva te da se ne sintetiziraju toksični nusprodukti.

Temperatura, aktivitet vode, pH i relativna vlažnost zraka parametri su rasta koji su konstantni za svaku pojedinu mikotoksikotvornu plijesan i sintezu mikotoksina. Osim toga, za sintezu mikotoksina ključni su supstrat, stres, mehanička oštećenja na biljci te antagonistički odnosi s drugim bakterijama i plijesnim.

Budući da poljoprivreda uvelike ovisi o klimi, njezinoj promjenjivosti i ekstremima, klimatske promjene imat će značajan utjecaj na primarne poljoprivredne sustave, a time i na zdravstvenu ispravnost hrane pri čemu se mikotoksini navode kao jedan od najvećih izazova. Budući da produkcija mikotoksina ponajprije ovisi o okolišnim čimbenicima, kada nastupe promjene u klimi, mikotoksini će također biti zahvaćeni. Promjene će dovesti do pomaka u odnosu biljke i patogena te promjenama u ustaljenim obrascima produkcije mikotoksina što u konačnici može značiti pad u količini i kvaliteti prinosa osnovnih prehrambenih usjeva, pogotovo u nerazvijenim zemljama svijeta, te pojačanu ili smanjenu kontaminaciju hrane mikotoksinima.

Zbog toga je cilj ovog rada dati recentan pregled literature vezane uz glavne mikotoksikotvorne plijesni te uvjete u kojima se mikotoksini produciraju s posebnim osvrtom na probleme s kojima se suočava poljoprivreda vezano uz klimatske promjene te kako će one utjecati na obrasce produkcije mikotoksina.

2. Mikotoksini i mikotoksikoze

Mikotoksini su molekule male molekularne mase, raznovrsnog biološkog učinka i strukture te su u pravilu bez boje i mirisa (Bazijanec 2015.). To su stabilni kemijski spojevi koji nastaju kao sekundarni metaboliti plijesni. Mikotoksini mogu biti sintetizirani tijekom rasta biljke od strane endofitskih plijesni dok su u procesu skladištenja najčešće produkt metabolizma saprofitskih plijesni (Janjčec 2018.). Mikotoksini nisu dio primarnog metabolizma već su odgovor plijesni na stresne uvjete kao što su suša, visoke temperature, štetnici i drugo (Vrdoljak 2017.). Kao sekundarni metaboliti plijesni, nisu nužni za njihov rast i razmnožavanje, ali im pružaju kompetitivnu prednost i pospješuju preživljavanje u prirodi (Weaver i sur. 2020.). Mikotoksini mogu ući u prehrambeni lanac izravno, konzumacijom kontaminirane namirnice ili neizravno preko rezidualnih ostataka mikotoksina u mlijeku, mesu ili jajima. Jednom kada se pojave u usjevu ili gotovoj namirnici vrlo ih je teško iz njih ukloniti (Haque i sur. 2020.).

Kontaminacija mikotoksinima najčešće se povezuje sa žitaricama loše kvalitete. Biljke su izložene kontaminaciji plijesni već tijekom rasta na polju te kroz skladištenje i preradu. Pšenica, sirak, zob, ječam i riža su žitarice za koje je karakteristična produkcija mikotoksina u polju za razliku od kukuruza kojem je svojstvena produkcija mikotoksina tijekom skladištenja i prerade (Furlan 2016.). Gotovo je nemoguće predvidjeti kontaminaciju usjeva mikotoksinima. Međutim, poznati su uvjeti pri kojima će se mikotoksini sintetizirati stoga je potrebno obratiti pažnju na vrstu usjeva, vremenske prilike tijekom rasta i razvoja, geografsko područje, agrotehničke mjere, fungicide te način skladištenja (Grbeša i sur. 2014.).

Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) procjenjuje da je u svijetu mikotoksinima kontaminirano 25% ukupne hrane no nedavna ispitivanja o učestalosti kontaminacije mikotoksinima pokazala su da je na globalnoj razini 30-100% uzoraka hrane kontaminirano mikotoksinima (Magnoli i sur. 2019.).

Mikotoksini kao česti onečišćivači hrane uzročnici su različitih bolesti kod ljudi i životinja koje se jednim imenom zovu mikotoksikoze. Mikotoksikoze su posljedica konzumacije hrane biljnog ili životinjskog podrijetla koja je kontaminirana mikotoksinima ili su posljedica izloženost zraku i prašini koja sadržava toksine (Bryden 2019.). Mikotoksikoze koje izazivaju mikotoksini nisu uobičajene u zdravoj populaciji već su im podložni ljudi s oslabljenim imunitetom ili kroničnim bolestima (Abbas 2019.).

Ulaskom u organizam, mikotoksini mogu izazvati akutne (visoka doza, kratko izlaganje) ili kronične (niska doza, dugotrajna izloženost) toksične efekte. Akutne ili kronične toksične efekte karakteriziraju mutagena, teratogena, kancerogena, imunotoksična, neurotoksična, hepatotoksična i dermatotoksična svojstva koja uzrokuju brojne poremećaje i bolesti (Tanushree i sur. 2019.). Mikotoksikoze se mogu raspoznati po sezonskoj pojavnosti, neučinkovitosti antibiotika i lijekova te neprenosivosti (Mitak 2015.).

Organi koje najčešće pogađaju su jetra, pluća, bubrezi, središnji živčani sustav te imunološki sustav. Nadalje, mikotoksikoze mogu dodatno pogoršati posljedice pothranjenosti ili sinergistički djelovati s drugim toksinima. Stupanj osjetljivosti organizma ovisi o spolu, dobi, cjelokupnom zdravlju organizma, količini i tipu mikotoksina te duljini izlaganja određenom mikotoksinu (Pleadin i sur 2018.). Povrh toga, socijalni, politički i ekonomski faktori utječu na pojavnost i intenzitet mikotoksikoza (Bryden 2019.).

Pleadin i sur. (2018.) prema djelovanju mikotoksina na organizam razlikuju:

- Nefrotoksini (okratoksin A, citrinin)
- Neurotoksini (patulin, fumonizin B₁)
- Hepatotoksini (aflatoksin B₁)
- Estrogeni (zearalenon)
- Kancerogeni (aflatoksin B₁, okratoksin A, fumonizin B₁)
- Imunosupresori (aflatoksin B₁, okratoksin A, T-2 toksin)

Različiti biološki učinci u ljudi koje uzrokuju mikotoksini prikazani su u Tablici 2.1.1.

Tablica 2.1.1. Simptomi i bolesti u ljudi koji se povezuju s unošenjem mikotoksina

Sustav	Zdravstveni problem	Mikotoksini
Krvožilni sustav	Smanjena elastičnost žila Unutarnja krvarenja	Aflatoksini, Safratoksini, Roridini
Probavni sustav	Proljev, povraćanje, krvarenje iz crijeva, oštećenje jetre, nekroza, fibroza oštećenja sluznice probavnog sustava i anoreksija	Aflatoksini, T-2 toksini, Deoksinivalenol
Dišni sustav	Poteškoće s disanjem, krvarenje iz pluća	Trihoteceni
Živčani sustav	Drhtavica, nekoordinirani pokreti, depresija, glavobolja	Tremorgen, Trihoteceni
Koža	Osip, osjet vrućine, fotosenzitivnost	Trihoteceni
Mokraćni sustav	Oštećenje bubrega	Oktratoksin, Citrinin
Reproduktivni sustav	Sterilnost, promjene u reproduktivnim ciklusima	T-2 toksini, Zearalenon
Imunološki sustav	Promjene ili potpuno uništenje	Mnogi mikotoksini

Izvor: Vasić – Rački i sur. (2010)

Kao što je prikazano u Tablici 2.1.1., mikotoksini se povezuju s različitim bolestima u ljudi i životinja, međutim do danas je otkriveno da su samo neki od njih u direktnoj vezi s razvojem dotičnih bolesti. Zbog interakcije mnogih bioloških čimbenika ne može se sa sigurnošću utvrditi koji je od njih uzročnik određene bolesti zbog čega je dijagnoza mikotoksikoza još uvijek otežana (Bryden 2019.).

Terapija za mikotoksikoze ne postoji stoga se liječenje usmjerava ka zahvaćenom organskom sustavu, a najdjelotvornija mjera je promjena prehrane nakon dijagnosticirane mikotoksikoze (Mitak 2015.).

3. Najznačajnije mikotoksikotvorne plijesni i njihovi mikotoksini

Plijesni su eukariotski, nefotosintetski mikroorganizmi koji obitavaju na različitim supstratima, a u prirodi se mogu pojaviti u obliku aktivno živućih vegetativnih tijela ili u obliku latentnih spora (Pleadin i sur. 2018.). Do danas je poznato oko 1.500.000 vrsta plijesni od čega veliki broj ima ključnu ulogu u prehrambenoj industriji u proizvodnji sira i suhomesnatih proizvoda te u farmaceutskoj industriji pri sintezi antibiotika. Od gore navedenog broja, oko 300 se vrsta smatra opasnima po život te zdravlje ljudi i životinja (Abbas i sur. 2019.).

Ishrana plijesni zasniva se na mrtvoj organskoj tvari pa ih često nalazimo u hrani biljnog i životinjskog podrijetla. Plijesni razlažu složene komponente organske tvari u jednostavne koje su nužne za rast i reprodukciju (Janjčec 2018.). Osim u hrani, plijesni se u obliku spora nalaze u zraku, a koncentracija ovisi o dobu dana, meteorološkoj prognozi (vremenskim prilikama), sezonskim klimatskim uvjetima i drugom (Šegvić i Pepelnjak 2004.). Do higijenske neispravnosti u hrani za životinje najčešće dolazi upravo zbog kontaminacije plijesnima. Prisutnost saprofitskih plijesni u krmi uzrokuje disbalans u probavnom traktu domaćih životinja, a posljedično tome i umnažanje uvjetno patogenih bakterija koje izazivaju različite bolesti.

Kako navodi Mitak (2015.) plijesni se dijele na plijesni polja i plijesni skladišta. Vrste *Alternaria*, *Fusarium*, *Rhizopus* i *Cladosporium* karakteristične su plijesni polja gdje redovito kontaminiraju žitarice, pogotovo za vrijeme kišnih godina. Recentnim istraživanjima dokazano je da je za vrijeme kišnih godina rod *Fusarium* kontaminirano od 20 do 82% uzoraka kukuruza. Pogreškama pri sušenju, skladištenju i preradi žitarica, dolazi do razmnožavanja plijesni *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* i drugih koje se jednim nazivom zovu plijesni skladišta. Razvoju plijesni u skladištu pogoduje kupnja već pljesnivih žitarica, miješanje kontaminiranih i nekontaminiranih žitarica, predugo držanje žitarica u silosima koji se ne održavaju na adekvatan način, držanje žitarica u vlažnim i toplim uvjetima i dr.

Mikotoksini koji nastaju kao sekundarni metaboliti plijesni produciraju se tijekom aseksualnog načina razmnožavanja plijesni, a u životinjske i ljudske organizme najčešće se unose hranom, a rjeđe zrakom ili preko kože (Scazzocchio 2019.). Prema Knežević i sur. (2013.) utvrđeno je više od 200 vrsta plijesni koje proizvode mikotoksine.

Svaka od mikotoksikovornih vrsta plijesni ima specifične karakteristike i uvjete pod kojima raste, sintetizira mikotoksine i kontaminira poljoprivredne usjeve (Van der Fels-Klerx i sur. 2016.). Nekolicina vrsta može proizvoditi isti mikotoksin, a s druge strane jedna vrsta plijesni može proizvoditi više različitih mikotoksina. S produkcijom mikotoksina najčešće povezuju rodovi *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*, *Claviceps* i *Alternaria* (Weaver i sur. 2020.). One rastu na supstratima biljnog i životinjskog podrijetla te imaju tendenciju nastanjivanja geografskih područja s toplom i vlažnom klimom (Pleadin i sur. 2019.). Na Slici 1. prikazane su namirnica kontaminirana plijesnima (A) i plijesan *Aspergillus flavus* (B).



Slika 1. A) Namirnica kontaminirana plijesnima (<https://www.rd.com/food/fun/place-forget-check-bread-mold/>); B) *Aspergillus flavus* (<http://www.medical-labs.net/aspergillus-flavus-under-microscope-1450/aspergillus-flavus-under-microscope/>)

U Tablici 3.1. prikazani su mikotoksini koji se najčešće pojavljuju u navedenim usjevima i namirnicama, vrste plijesni koje ih produciraju te djelovanje na organizam koje imaju jednom kada se unesu u organizam.

Tablica 3.1. Glavni prehrambeni mikotoksini, vrste plijesni koje ih produciraju, usjevi koje kontaminiraju i zdravstveni problemi koje uzrokuju kod ljudi i životinja

Mikotoksin	Vrsta plijesni	Usjevi koje kontaminiraju	Vrste pogođene kontaminacijom mikotoksina	Toksičnost i patološki učinci
Aflatoksini	<i>Aspergillus</i> spp. (<i>A. flavus</i> , <i>A. nomius</i> , <i>A. parasiticus</i>) <i>Emericella</i> spp. (<i>E. astellata</i> , <i>E. venezuelensis</i> , <i>E. olivicola</i>)	Kukuruz, pšenica, riža, šećerna trska, kikiriki, mliječni proizvodi, jaja, meso	Perad, svinje, psi, ovce, majmuni, mačke i ljudi	Kancerogeni, mutageni, hepatotoksični, teratogenični, nefrotoksični učinci
Okratoksini	<i>Aspergillus</i> spp. (<i>A. alliaceus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. glaucus</i> , <i>A. citricus</i> , <i>A. ochraceus</i>) <i>Penicillium</i> spp. (<i>P. viridicatum</i> , <i>P. verrucosum</i>)	Ječam, pšenica, vino, kava, raž, zob, začini	Svinje, psi, patke, kokoši, štakori, ljudi	Mutageni, nefrotoksični, hepatotoksični, kancerogeni učinak Inhibicija sinteze proteina
Fumonizini	<i>Fusarium</i> spp. (<i>F. graminearum</i> , <i>F. cerealis</i> , <i>F. moniliforme</i>) <i>Myrothecium</i> sp., <i>Trichoderma</i> sp.,	Kukuruz, proizvodi od kukuruza, šećerna trska, šparoge, riža, mlijeko	Konji, svinje, štakori, kokoši, ljudi	Citotoksični, mutageni, neurotoksični učinci Anoreksija, proljev, krvarenje, neplodnost
Zearalenon	<i>Fusarium</i> spp. (<i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. cerealis</i> , <i>F. incarnatum</i>)	Ječam, zob, riža, šećerna trska, sezam, soja	Svinje, mliječne krave, kokoši, janjad, štakori, zamorci, ljudi	Karcergen, genotoksičan, estrogen učinak na reproduktivni sustav
Citrinin	<i>Penicillium</i> spp. (<i>P. citrinum</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. radicola</i> , <i>P. verrucosum</i>) <i>Monascus purpureus</i>	Skladištene žitarice, proizvodi od žitarica, sir, pokvareni mliječni proizvodi	Perad, žitarice, ljudi	Nefrotoksični, hepatotoksični, imunotoksični, kancerogen učinci
Trihoteceni	<i>Fusarium</i> spp. (<i>F. graminearum</i> , <i>F. cerealis</i> , <i>F. moniliforme</i>)	Žitarice i proizvodi od žitarica	Svinje, stoka, kokoši, konji, psi, miševi, ljudi	Citotoksični, imunotoksični, neurotoksični učinci

Izvor: Haque i sur. (2020.)

3.1. Rod *Aspergillus*

Rod *Aspergillus* broji preko 200 poznatih vrsta plijesni, a ova taksonomska jedinica prepoznatljiva je po svom istaknutom doprinosu farmaceutskoj, poljoprivrednoj i prehrambenoj industriji. Ta kozmopolitska skupina plijesni ima vrlo važnu ulogu u funkcioniranju različitih ekosustava, razgrađujući raznovrsne organske supstrate, ponajviše mrtav biljni materijal (Baker i Bennett 2008.). Rod *Aspergillus* pripada u saprofitske organizme koji mogu rasti na različitim namirnicama, ali i na usjevima u polju (Scazzocchio 2019.), no najbolje rastu na namirnicama s niskim aktivitetom vode (Pleadin i sur. 2018.). Raznolikost organskih kiselina i enzima koje koristi u svojoj ishrani, nadopunjena je metaboličkom sposobnosti lučenja sekundarnih metabolita – mikotoksina za koje se vjeruje da su bitni u mikrobnj komunikaciji i ekološkoj signalizaciji (Baker i Bennett 2008.).

Pojedine vrste roda *Aspergillus* sintetiziraju mikotoksine koji su izrazito opasni za ljude i životinje. Najčešće se pojavljuju u skladištenim proizvodima kao što su npr. žitarice, orašasti plodovi, razni začini i meso životinja. Bolesti koje uzrokuju nazivaju se aspergiloze, a pojavljuju se u osoba s plućnim bolestima ili u osoba koje su bile kontaktu s njihovim sporama što su najčešće hortikulturalni radnici. Rod *Aspergillus* na biljkama također uzrokuje različita oštećenja; breskve, limuni, naranče i smokve podložne su crnoj truleži te je uzročnik kvarenja ulja kikirikija i kukuruza. Najznačajnije vrste roda *Aspergillus* koje produciraju mikotoksine su *Aspergillus niger* i *Aspergillus ochraceus*. *Aspergillus niger* uzrokuje nastanak crne plijesni na voću i povrću, a dokazano je da sintetizira okratoksin A, međutim malo je vjerojatno da će izazvati bolest u ljudi. *Aspergillus ochraceus* producent je okratoksina A i citrinina, a njegove spore u zraku mogući su uzrok plućnih bolesti u ljudi (Pleadin i sur. 2018.). Na Slici 2. prikazane su vrste *Aspergillus niger* (A) i *Aspergillus ochraceus* (B).



Slika 2. A) *Aspergillus niger*; B) *Aspergillus ochraceus*

Vrste *Aspergillus flavus* i *Aspergillus parasiticus* su glavni producenti aflatoksina, značajnog onečišćivača namirnica u tropskom i suptropskom području (Scazzocchio 2019.). U prirodi, *Aspergillus flavus* pojavljuje se na uvenulim biljkama i uginulim životinjama, a posljedično tome bitna je karika kruženja hranjiva u prirodi. Također, raste u širokom temperaturnom rasponu (12 °C – 48 °C) što doprinosi njezinom globalnom patogenom djelovanju stoga se upravo zbog toga postavljaju strogi uvjeti skladištenja usjeva (Pleadin i sur. 2018.).

3.1.1. Aflatoksini

Aflatoksini su sekundarni metaboliti roda *Aspergillus* i toksikološki su najvažniji mikotoksini zbog velikih zdravstvenih problema koje izazivaju kod ljudi i životinja. Vrste *A. flavus*, *A. parasiticus* i *A. nomius* su dominantni producenti aflatoksina u tropskim i suptropskim područjima (Nleya i sur. 2018.). Optimalni uvjeti za produkciju aflatoksina su temperature između 26 i 38 °C, a udio vlage u zraku mora biti veći od 18%. Aflatoksini su derivati difurokumarina, fotosenzibilni su i vidljivi u UV spektru pri valnoj duljini od 365 nm (Domaćinović i sur. 2012.). Nadalje, topivi su u organskim otapalima (aceton, alkohol, kloroform), termostabilni su te u prirodnom stanju vezani na proteine koji ih brane od nepovoljnih vanjskih utjecaja (Furlan 2016.). Do danas je poznato šest oblika aflatoksina; B1, B2, G1 i G2 nalaze se u hrani biljnog podrijetla, a M1 i M2 u hrani životinjskog podrijetla (Negash 2018.).

Aflatoksini su moćni kancerogeni koji mogu imati utjecaj na sve organe sustava, a posebice na jetru i bubrege. Aflatoksin B₁ uzrokuje karcinom jetre, a potencijal aflatoksina da uzrokuje rak jetre povećava se s prisutnosti infekcije virusom hepatitisa B. Nadalje, imaju mutageno djelovanje u bakterijama, mogu izazvati urođene mane kod djece te uzrokuju imunosupresiju koja značajno umanjuje otpornost na infekcije u ljudi. Kod domaćih životinja također uzrokuju različite štetne učinke. Kokoši su podložne bolestima jetre, imunološki sustav im je oslabljen te dolazi do smanjene proizvodnje jaja i lošije kvalitete ljuske jaja. Kod svinja se javljaju oštećenja jetre, goveda gube na težini, javljaju se bolesti bubrega i jetre, a proizvodnja mlijeka kod krava značajno je reducirana (WHO 2018.).

Budući da se hrana životinjskog podrijetla i hrana za životinje često kontaminira s aflatoksikogenim plijesnima i njihovim toksinima, posljedice toksičnih efekata koje izazivaju aflatoksini sveprisutne su. Osim zdravstvenih problema koje uzrokuju, aflatoksini predstavljaju ozbiljan gospodarski teret tako što godišnje čine zdravstveno neispravnim oko 25% svjetskih usjeva (WHO 2018.).

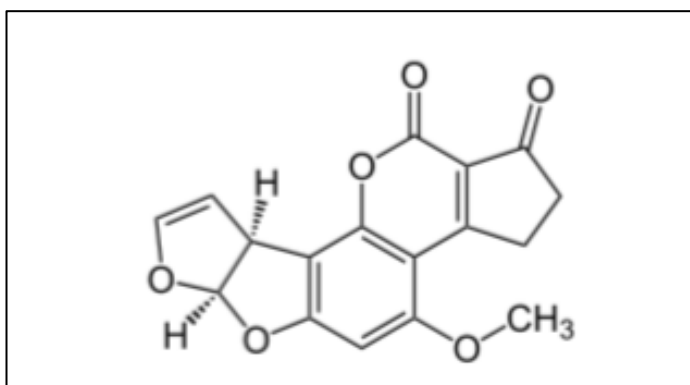
Aflatoksin B₁ (AFB₁) je vrlo moćan kancerogen koji je u izravnoj vezi s ljudskim karcinomom jetre (Negash 2018.). Pojavljuje se u žitaricama, uljaricama, kavi, riži, kikirikiju i pistaciju (Šarkanj i sur. 2010.). U organizmu sisavaca, biološki se transformira kako bi izazvao reakciju – inhibira sintezu proteina, DNA i glasničke RNA.

Ovaj mikotoksin izaziva u ljudima i životinjama karcinome jetre, oštećuje bubrege, pluća, gušteraču i druge organe. Akutno trovanje velikim dozama aflatoksina B₁ može imati fatalne posljedice za ljude i životinje dok dugotrajna izloženost nižim dozama može uzrokovati maligne tumore (Furlan 2016.).

Kontrole razina aflatoksina u namirnicama vrlo su stroge u razvijenim državama svijeta, međutim u državama u razvoju, kontrola je gotovo nemoguća zato što ljudi skladište usjeve u svojim domovima zbog čega su aflatoksikoze nazvane „bolestima siromaštva“ (Scazzocchio 2019.).

Međunarodna agencija za istraživanje raka (*International Agency for Research on Cancer-IARC*), kategorizirala je aflatoksin u Skupinu 1 spojeva s dokazanim kancerogenim djelovanjem (Furlan 2016.).

Prema Uredbi Komisije br. 1881/2006 i Uredbi Komisije br. 165/2010, najveća dopuštena količina aflatoksina B₁ u hrani za odrasle osobe iznosi od 2 µg/kg do 12 µg/kg za orašaste plodove, a za žitarice i sušeno voće iznosi od 2 µg/kg do 5 µg/kg (Pleadin i sur. 2018.). Strukturni prikaz aflatoksina B₁ prikazan je na Slici 3.



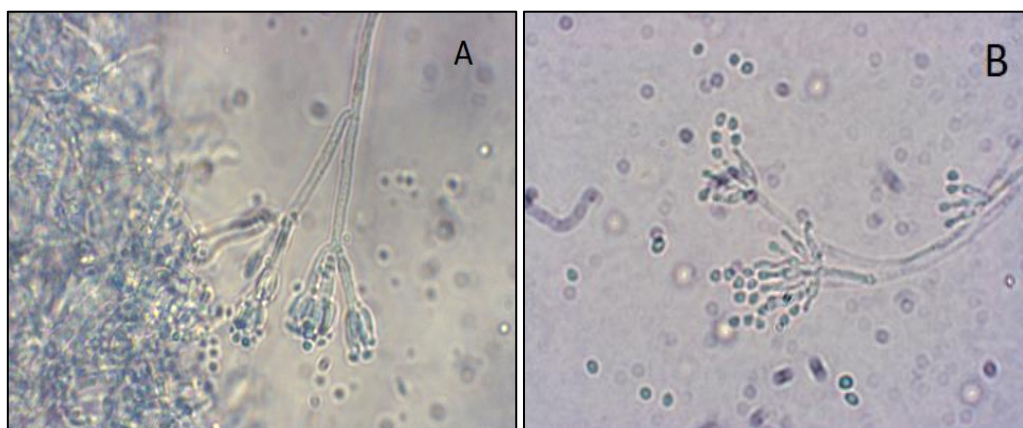
Slika 3. Strukturni prikaz aflatoksina B₁

Izvor: <http://www.fgsc.net/fgn/sterig.gif>

3.2. Rod *Penicillium*

Rod *Penicillium* je jedan od najpoznatijih rodova plijesni. Vrste ovog roda žive u širokom rasponu staništa kao što su tlo, zrak, prehrambeni proizvodi, a mogu preživljavati i u ekstremnim uvjetima (temperatura, slanost, pH, nedostatak vode). Ovaj rod plijesni stekao je slavu tako što je revolucionirao liječenje bakterijskih infekcija, a ništa manje nije poznat u prehrambenoj industriji gdje se koristi pri proizvodnji različitih sireva i fermentiranih kobasica (Yadav i sur. 2018.). Vrste roda *Penicillium* produciraju mikotoksine koji se jako razlikuju po molekularnom sastavu i toksičnosti. Okratoksin A,B,C i citrinin najpoznatiji su mikotoksini roda *Penicillium* koji uzrokuju bolesti bubrega, jetre te živčanog sustava (Furlan 2016.).

Penicillium verrucosum, poznati je producent okratoksina A, a najčešće se pojavljuje u hladnijim klimatskim područjima gdje kontaminira žitarice i krmne smjese. *Penicillium expansum* kontaminira voće pri nepravilnom skladištenju, a konzumacijom takvih namirnica može doći do probavnih smetnji i oslabljenih funkcija živčanog sustava koje izaziva mikotoksin patulin. Na Slici 4. prikazane su vrste plijesni *Penicillium verrucosum* (A) i *Penicillium expansum* (B).



Slika 4. A) *Penicillium verrucosum*; B) *Penicillium expansum*

3.2.1. Okratoksini (OTA)

Okratoksini (OTA) su mikotoksini koje produciraju rodovi plijesni *Penicillium* i *Aspergillus*, a kontaminirajući usjeve uzrokuju neželjene posljedice na zdravlje životinja i ljudi. Okratoksin A najistaknutiji je predstavnik okratoksina, a slično aflatoksinima, njegova pojava povezana je s visokim udjelom vlage u zraku i temperaturi tijekom vegetacije, skladištenja i prerade krmiva (Pietsch 2019.). Otkriven je kao metabolit vrste *Aspergillus ochraceus* 1965. godine, a ubrzo nakon toga izoliran je iz plijesni koja je pronađena na komercijalnom uzorku kukuruza u Sjedinjenim Američkim Državama gdje je prepoznat kao moćan nefrotoksin (Bennet i Klich 2003.).

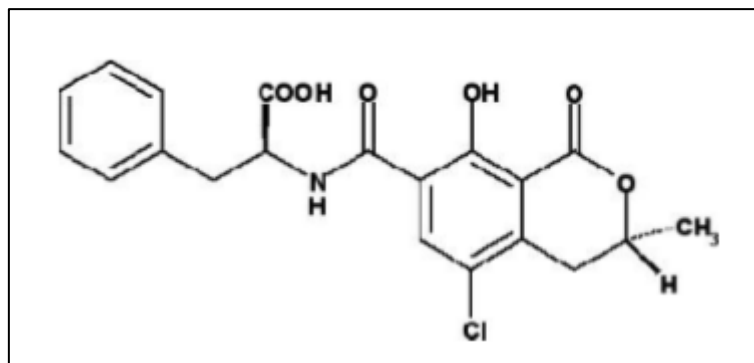
Kao rezultat loše poljoprivredne prakse, okratoksini kontaminiraju žitarice, kavu, čajeve, začine, mahunarke, sušeno voće, a pronađen je u vinu, pivu i voćnim sokovima gdje su se tijekom proizvodnje koristile kontaminirane sirovine (Milićević i sur. 2014.). Drugi autori (Duraković i Duraković 2000., Delaš 2010.) smatraju da su najopasniji izvori okratoksina A riba, orasi, sušeno meso, kruh, kikiriki i grah u baltičkim zemljama te katkad u tropskim područjima. Analizom navedenih namirnica utvrđeno je da okratoksin A sintetiziraju vrste *Penicillium verrucosum*, *Penicillium viridicatum*, *Aspergillus niger* i *Aspergillus carbonarius* (EFSA 2004., Duarte i sur. 2011.). Optimalna temperatura pri kojoj *Aspergillus ochraceus* sintetizira okratoksin je između 25 i 30 °C, a za vrstu *Penicillium verrucosum* idealna temperatura je 25 °C (Paterson i Lima 2010., Van der Fels-Klerx i sur. 2016.).

Okratoksin A je derivat organskog spoja izokumarina kojeg produciraju rodovi plijesni *Aspergillus* i *Penicillium* (Pietsch 2019.). OTA je bezbojan prah kristalne strukture koji je u kiselom i neutralnom pH topiv u organskim otapalima, a u vodi je slabo topiv. Vrlo je stabilan pri visokim temperaturama što znači da se termičkom obradom ne može ukloniti iz namirnice (Janjčec 2018.).

Okratoksin predstavlja ugrozu za zdravlje ljudi i životinja. Njegova toksičnost smatra se vrlo ozbiljnom zato što posjeduje nefrotoksična, imunotoksična i kancerogena svojstva (Kebede i sur. 2019.). Kako navode Milićević i sur. (2014.) mehanizam toksičnosti OTA temelji se na kompetitivnoj inhibiciji mitohondrijskih enzima (ATP-aza, sukcinat dehidrogenaza i citokrom C oksidaza) te stvaranju hidroksil radikala i lipidne peroksidacije. Nadalje, OTA inhibira sintezu proteina u prokariotskim i eukariotskim stanicama. Na bazi velikog broja podataka o kancerogenom djelovanju ovog mikotoksina, IARC je klasificirala OTA kao mogući kancerogeni agens za ljude i kategorizirala ga u skupinu 2B (IARC, 1993.). Česta kontaminacija namirnica okratoksinom A zabilježena je na području Hrvatske, Bosne i Hercegovine, Srbije, Bugarske, i Rumunjske gdje je uzročnik teške bolesti - balkanska endemska nefropatija (kronična bolest bubrega i tumor urinarnog trakta).

Od svih domaćih životinja, svinje su najosjetljivije na kontaminaciju okratoksinom koja dovodi do smanjenja funkcije bubrega dok s druge strane, preživači u buragu vrlo brzo razgrađuju okratoksin i pretvaraju ga u manje toksičan oblik (okratoksin- α) što ih čini tolerantnima na ovaj mikotoksin (Magnoli i sur. 2019.). Kod peradi otrovanje okratoksinom uzrokuje slabost, anemiju, lošu kvalitetu perja, smanjenu potrošnju hrane, a posljedično tome i manju produktivnost (Haque i sur. 2020.).

Prema Uredbi Komisije (EZ) br. 1881/2006, najveća dopuštena količina okratoksina A u ljudskoj hrani iznosi od 0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ u hrani za dojenčad i prerađenoj hrani na bazi žitarica do 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ u začинима i sušenim plodovima (Pleadin i sur. 2018.). Strukturni prikaz okratoksina A prikazan je na Slici 7.



Slika 5. Strukturni prikaz okratoksina A

Izvor: <http://apelasyon.com/img/userfiles/images/okratoxin904.jpg>

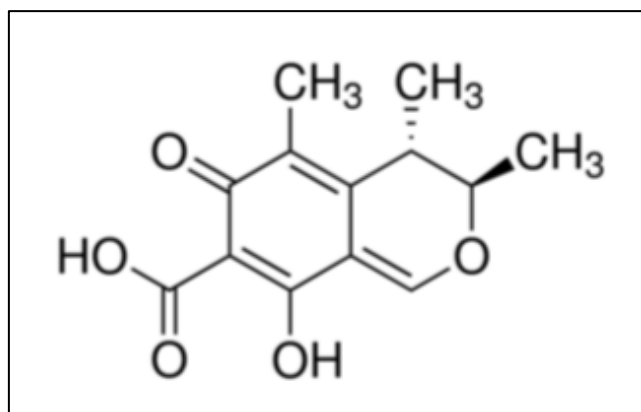
3.2.2. Citrinin

Citrinin je sekundarni metabolit plijesni *Penicillium expansum*, *Penicillium viridicatum*, *Penicillium citrinum* te nekih vrsta roda *Aspergillus* i *Monascus* spp. (Abramson i sur. 2009., Bhaat i sur. 2010.). Glavni izvor trovanja hranom u zemljama s toplom i vlažnom klimom je citrinin gdje se često pojavljuje u voću, orašastim plodovima, ječmu, kukuruzu, riži, pokvarenim mliječnim proizvodima siru i voćnim sokovima (Haque i sur. 2020.). Optimalna temperatura za rast vrste *Penicillium citrinum* je 30 °C i pH od 2 do 10 (Thanushree i sur. 2019.).

Citrinin je spoj žute boje, cikličke strukture s karboksilnom skupinom. Stabilan je u organskim otapalima u uvjetima neutralnog pH. Ukoliko se citrinin nađe u vodenim otopinama na temperaturi većoj od 70 °C postaje termički labilan te disocira na citrinin H2 koji je slab citotoksin i citrinin H1 koji je toksičniji od citrinina. Iako je *Penicillium citrinum* vrlo široko rasprostranjena plijesan i može se izolirati iz gotovo svakog uzorka hrane, citrinin se zbog svoje termičke nestabilnosti vrlo lako može ukloniti iz namirnice termičkom obradom (Pleadin i sur. 2019.).

U industriji se citrinin, izoliran iz vrsta *Monascus ruber* i *Monascus purpureus*, koristi za proizvodnju crvenog pigmenta. Također, povezuje se i s bolešću žute riže u Japanu, a pronađen je i u prirodno fermentiranim kobasicama u Italiji (Bennet i Klich 2003.). Iako se citrinin povezuje s ljudskom prehranom njegov utjecaj na ljudsko zdravlje i dalje nije potpuno razjašnjen, no poznato je da je citrinin nefrotoksičan mikotoksin koji sinergistički djeluje s OTA što ga čini jednim od mogućih uzročnika balkanske endemske nefropatije (Miličević i sur. 2014., Pleadin i sur. 2019.).

Prema Uredbi Komisije (EZ) br. 1881/2006, najveća dopuštena količina citrinina u ljudskoj hrani iznosi od 1.1 do 584 µg/kg za žitarice, a za voće je maksimalna dopuštena količina od 280 do 920 µg/kg (Pleadin i sur. 2018.). Strukturni prikaz citrinina prikazan je na Slici 8.



Slika 6. Strukturni prikaz citrinina

Izvor: <http://www.adipogen.com/media/catalog/product/a/g/ag-cn2-0101.png>

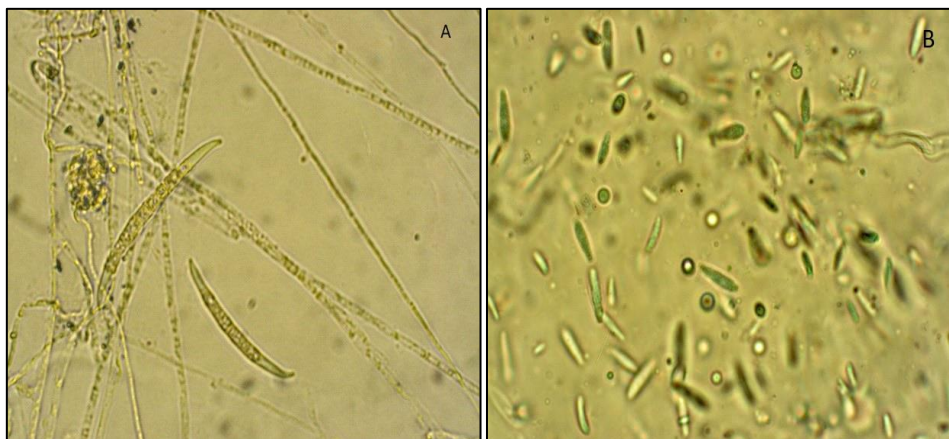
3.3. Rod *Fusarium*

Rod *Fusarium* je jedan od najpoznatijih rodova plijesni, ujedno i biljnih patogena. Utjecaj različitih mikotoksina koje producira rod *Fusarium*, premašuju utjecaj bilo kojeg drugog toksina ili skupine toksina (Munkvold 2017.). Najpoznatiji mikotoksini koje ovaj rod producira su fumonizin, deoksinivalenol, zearalenon i T-2 toksin. Prema Munkvoldu (2017.) biljni patogeni roda *Fusarium* podijeljeni su u 4 velike skupine:

1. *Fusarium fujikuroi* skupina vrsta – pripadnici ove vrste uzrokuju štete na šećernoj trsci, kukuruzu, riži i mangu, a žitarice kontaminiraju mikotoksinom fumonizin (*F. moniliforme*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans*)
2. *Fusarium graminearum* skupina vrsta – pripadnici ove vrste uzrokuju štete na žitaricama sitnog zrna i kukuruzu kontaminirajući ih trihotecenom B i zearalenonom (*F. roseum*, *F. culmorum*, *F. crookwellense*)
3. *Fusarium oxysporum* skupina vrsta – pripadnici ove vrste su poznati uzročnici truljenja korijena te vaskularnih bolesti biljaka ali nisu značajni producenti mikotoksina koji imaju negativan učinak na ljude i životinje (*F. oxysporum*)
4. *Fusarium solani* skupina vrsta – pripadnici ove vrste uzrokuju truljenje korijena, donjeg dijela stabljike usjeva te sindrom iznenadne smrti soje; ne produciraju mikotoksine s neželjenim učinkom na ljude i životinje (*F. solani sensu lato*, *F. virguliforme*)

Rod *Fusarium* najčešće nastanjuje sjeverne i umjerene predjele Sjeverne Amerike, Europe, i Azije zato što im za rast i razvoj pogoduje klima s mnogo oborina i velikim temperaturnim amplitudama. Do sinteze mikotoksina dolazi već u polju, a mogu se pojaviti i kasnije u silosima. Koliko će se mikotoksina sintetizirati u polju ovisi o temperaturi zraka, vlazi i količini oborina no rod *Fusarium* najproduktivniji je za vrijeme vrućih i sušnih dana s velikom količinom vlage u zraku (Janjčec 2018.).

U Republici Hrvatskoj, vrste roda *Fusarium* često zahvaća kukuruz, uzrokujući crvenu trulež klipa i bolesti zrna kojom je zahvaćeno 60-100% zrnja. Ako dođe do skladištenja takvog zrna, dolazi do sigurne kontaminacije kukuruza mikotoksinima (Bažok i sur. 2010.). Na Slici 7. prikazane su vrste plijesni *Fusarium graminearum* (A) i *Fusarium culmorum* (B).



Slika 7. A) *Fusarium graminearum*; B) *Fusarium culmorum*

Najznačajnija vrsta iz roda *Fusarium* je *Fusarium graminearum* koja producira mikotoksine deoksinivalenol, nivalenol i zearalenon. Osim toga, uzrokuje fuzarijsku bolest pšenice i ostalih žitarica koja itekako utječe na kvalitetu i kvantitetu prinosa (Pleadin i sur. 2018.).

3.3.1. Fumonizin

Fumonizin je sekundarni metabolit plijesni *Fusarium* spp., a smatra se da je vrsta *Fusarium verticillioides* u najvećoj mjeri zaslužna za produkciju ovog opasnog mikotoksina (Domijan 2012.). Za sintezu fumonizina idealna je tropska ili suptropska klima dok su biljke pod stresom, a sintezi pogoduje i fizičko oštećenje biljaka od strane kukaca (Bažok i sur. 2010.). Nadalje, do kontaminacije fumonizinom dolazi već prije žetve i tijekom sušenja usjeva međutim tijekom skladištenja, koncentracija fumonizina u usjevu ne raste. Fumonizin se dugo nije smatrao problematičnim zagađivačem hrane za životinje zbog toga što je nestabilan u procesima prerade hrane, međutim dokazano je da se u procesima koji dovode do hidrolize lanca trikarboksilne kiseline, toksičnost FB₁ povećava (Pietsch 2019.).

Od 28 vrsta fumonizina koje su do danas okarakterizirane, FB₁, FB₂, FB₃ su najučestaliji zagađivači namirnica (Haque i sur. 2020.). Fumonizini kontaminiraju kukuruz, zob, rižu, slatki krumpir, lješnjak i orahe; u namirnicama životinjskog podrijetla fumonizin nije detektiran u koncentracijama koje bi dovele u opasnost ljudsko zdravlje (Domaćinović i sur. 2012.).

Fumonizini su termostabilni organski spojevi (otpornost na visoke temperature pri termičkoj obradi), fotosenzibilni su te otporni na lužine. Za razliku od svih ostalih mikotoksina, fumonizin je topljiv u vodi (Pleadin i sur. 2015.).

U ljudi, fumonizini se povezuju s povećanjem slučajeva karcinoma jednjaka u dijelovima Afrike, Azije i Središnje Amerike no učinak fumonizina na zdravlje ljudi još uvijek nije posve utvrđen (Kebede i sur. 2019.). Na životinje čija se hranidba bazira na kukuruzu, fumonizin može djelovati hepatotoksično i neurotoksično, a osim toga uzrokuje karcinom jednjaka i jetre (Kanižai Šarić i sur. 2013.).

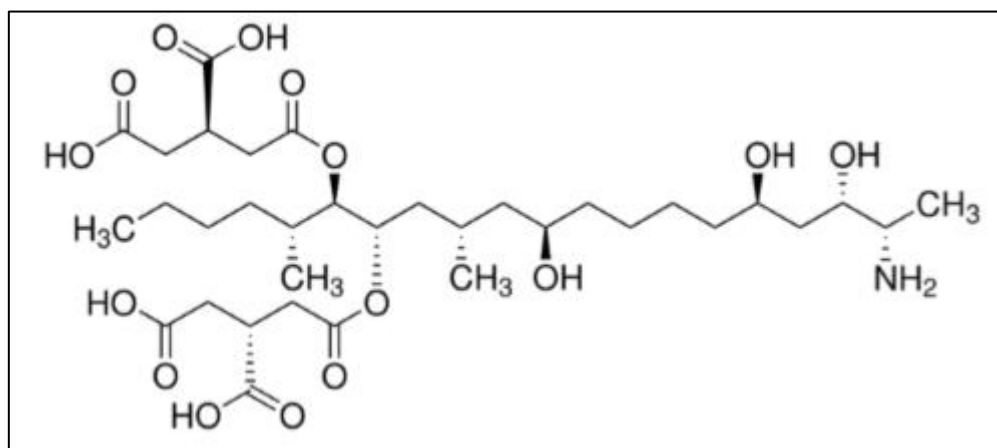
Fumonizin B₁ uzrokuje leukoencefalomalaciju kod kopitara i plućni edem svinja dok je među glodavcima je evidentirana niska kancerogenost fumonizina (Murphy i sur. 2006.). Zabilježeni su slučajevi oštećenja neuralne cijevi novorođene djece u južnom Teksasu, Meksiku, Gvatemali, Egiptu i Kini kao posljedica izloženosti trudnica namirnicama onečišćenim fumonizinom B₁ (Haque i sur. 2020.).

Kontaminacija fumonizinom dovodi i do ekonomskih gubitaka. FB₁ najveće gubitke čini u akvakulturi jer se čak više od 70% ukupnog fumonizina nalazi upravo u vodenim organizmima (Pietsch 2019.). Usjevi kojim se prehranjuju domaće životinje, a onečišćeni su fumonizinom, mogu dovesti do pada kvalitete mesa (Valpotić i Šerman 2006.), a u mliječnim krava zabilježena je smanjena količina mlijeka pri koncentraciji u hrani većoj od 100 mg/kg (Domaćinović i sur. 2012.).

Prema Kanižai Šarić i sur. (2013.) vrsta *F. verticillioides* uzrokuje štete na kukuruzu smanjujući kvalitetu i kvantitetu zrna, a *F. graminearum* je uzročnik tzv. paleži klasova; korijen truli, fenofaza zrenja i nalijevanja zrna se prekida, a zrnje kukuruza je malo i smežurano.

Međunarodna agencija za istraživanje raka-IARC (1993c) klasificirala je fumonizin B₁ kao mogući kancerogen za ljude - skupina 2B (Bhat i sur. 2010.).

Prema Uredbi Komisije (EZ) br. 1881/2006, najveće dopuštene količine fumonizina u ljudskoj hrani iznose 200 µg/kg za malu djecu i dojenčad, a za odrasle dopuštena količina iznosi do 1000 µg/kg (Pleadin i sur. 2018.). Strukturni prikaz fumonizina B₁ prikazan je na Slici 8.



Slika 8. Strukturni prikaz fumonizina B₁

Izvor: <http://www.mpbio.com/images/product-images/molecular-structure/02159925.png>

3.3.2. Zearalenon (ZEA)

Zearalenon (ZEA) je mikotoksin koji se navodi kao fitoestrogen, a naziv je dobio po vrsti plijesni *Giberella zeae* iz koje je izoliran 1962. godine. Producenti zearalenona su plijesni iz roda *Fusarium*, točnije vrsta *F. graminearum* i neki izolati *F. culmorum*, *F. cerealis* i *F. gibbosum* (Šarkanj i sur. 2010.). Fitoestrogeni su supstance koje su prisutne u biljkama, a po kemijskoj strukturi su vrlo slične s hormonom estrogenom. Optimalni uvjeti za rast plijesni roda *Fusarium* su postotak vlage u zraku koji mora biti viši od 70%, temperatura oko 25 °C, a kako bi se aktivirali enzimi koji su potrebni za sintezu toksina potrebna je niža inicijalna temperatura. Za sintezu zearalenona, nužna je pH vrijednost medija 3 – 9 (Thanushree i sur. 2019.).

Zearalenon je lakton rezorcilne kiseline. Termostabilan je, netopljiv u vodi i ugljičnom disulfidu, a topiv je u vodenim otopinama lužina, dietil eteru, benzenu, kloroformu i alkoholu. Nakon unosa u organizam, ZEA se vrlo brzo apsorbira te se izlučuje u žuč (Zinedine i sur. 2007.). Stabilan je tijekom skladištenja, prerade i termičke obrade (Alexander i sur. 2004.). Poznato je oko 150 derivata zearalenona međutim najznačajniji je reducirani produkt zearalenona, α -zearalenol koji je 3-4 puta toksičniji od samog zearalenona, a nastaje transformacijom u buragu preživača (Pleadin i sur. 2015.).

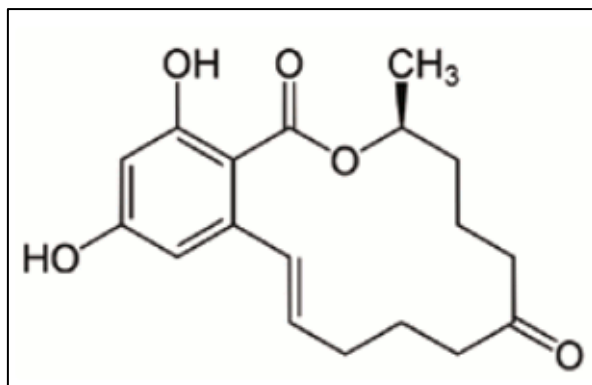
Poput drugih fuzarijskih mikotoksina, zearalenon se sintetizira u predjelima s umjereno toplom klimom (Samardžija i sur. 2017.). Pojavljuje se pretežito na žitaricama (pšenica, raž, riža, ječam, soja) no može se pojaviti i na brokuli, hmelju i kupusu.

Nadalje, prisutnost zearalenona i njegovih produkata dokazana je u hrani za životinje, kikirikiju, hrani životinjskog podrijetla i fermentiranim proizvodima kao što je npr. pivo (Domaćinović i sur. 2012.).

Zearalenon se zbog svoje kemijske strukture slične estrogenu veže za njegove receptore u spolnim stanicama te izaziva reproduktivne poremećaje koji se očituju hiperestrogenizmom u životinjskom i ljudskom organizmu (Haque i sur. 2020.). Konzumacija usjeva kontaminiranih zearalenonom dovodi do poremećaja urogenitalnog sustava, a otrovanje zearalenonom rezultira trajnim posljedicama na reproduktivnim organima. Kod domaćih životinja dolazi do atrofije jajnika i sjemenika, inhibicije prednjeg režnja hipofize i hipotalamusa, duljina estrusa se produljuje, a može doći i do neplodnosti. Zearalenon također inhibira lučenje folikulostimulirajućeg hormona (FSH) zbog čega neće doći do ovulacije, koncentracija hormona progesterona u krvi raste, a moguća je i pojava „lažne“ trudnoće i anestrije (Samardžija i sur. 2017.).

Za razliku od peradi i preživača, svinje su vrlo senzibilne na djelovanje ovog mikotoksina stoga često podliježu mikotoksikozama koje uzrokuje ZEA. Kancerogeno djelovanje na ljude nije dokazano stoga je IARC (1993) kategorizirao zearalenon u Skupinu 3 - nema kancerogena svojstva za ljude (Domaćinović i sur. 2012.).

Prema Uredbi Komisije (EZ) br. 1881/2006, najveće dopuštene količine zearalenona u ljudskoj hrani iznose 20 $\mu\text{g/kg}$ za malu djecu i dojenčad dok je za odrasle najveća dopuštena količina 200 $\mu\text{g/kg}$ (Pleadin i sur. 2018.). Strukturni prikaz zearalenona prikazan je na Slici 9.



Slika 9. Strukturni prikaz zearalenona

Izvor: <https://veterina.com.hr/?p=68170>

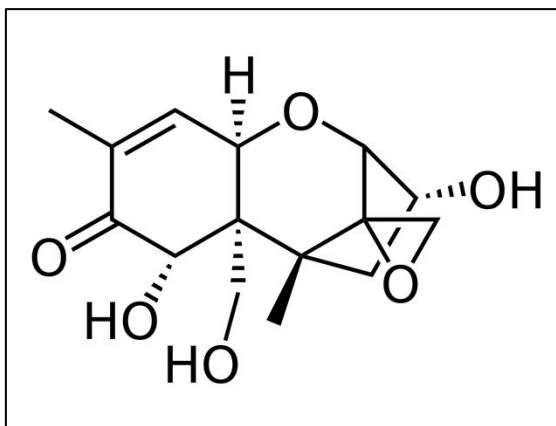
3.3.3. Deoksinivalenol (DON)

Deoksinivalenol (DON, vomitoksin) je sekundarni metabolit vrsta *Fusarium graminearum* i *Fusarium culmorum* koji se najčešće pojavljuje na žitaricama; pšenici, ječmu i kukuruzu, a ponekad na zobu, raži i riži u predjelima umjerene tople klime. Osim u žitaricama, DON je pronađen i u namirnicama životinjskog podrijetla (Pleadin i sur. 2019.).

Deoksinivalenol pripada u skupinu trihotecenskih mikotoksina tipa B. Trihoteceni se smatraju visoko toksičnim mikotoksinima no DON se nahodi kao jedan od manje toksičnih trihotecena uzrokujući akutne gastrointestinalne smetnje kod ljudi i životinja (Kebede i sur. 2019.). Iako DON uzrokuje akutne mikotoksikoze u ljudi, ne treba ga se zato smatrati bezopasnim. Naime, njegov najveći značaj je široka rasprostranjenost u svijetu zato što se DON nalazi upravo u namirnicama koje konzumira jako velik broj ljudi. Izaziva mučninu, povraćanje, proljev, bol u trbuhu, glavobolju, vrtoglavicu i vrućicu. Ako dođe do sinergije s nekim drugim mikotoksinom npr. aflatoksinom B1, DON ispoljava značajnije mutagene učinke (Pleadin i sur. 2019.). Kod životinja koje su konzumirale hranu kontaminiranu DON-om dolazi do odbijanja hrane i povraćanja, a kronični problemi odražavaju se kroz smanjen prirast, promjene na prsnoj žlijezdi, jetri, srcu i slezeni. Deoksinivalenol se brzo apsorbira, a metabolizam je spor uslijed čega se 95% unesenog DON-a u organizam izluči fecesom i urinom, a krave ga izlučuju mlijekom.

Deoksinivalenol nije se iskazao kao kancerogen stoga je IARC kategorizirao DON u Skupinu 3 – nema kancerogena svojstva na ljude (Pleadin i sur. 2015.).

Prema Uredbi Komisije (EZ) br. 1881/2006, najveća dopuštena količina deoksinivalenola u ljudskoj hrani iznosi 200 µg/kg za malu djecu i dojenčad, a za odrasle najveća dopuštena količina iznosi 750 µg/kg (Pleadin i sur. 2018.). Strukturni prikaz deoksinivalenola prikazan je na Slici 10.



Slika 10. Strukturni prikaz deoksinivalenola

Izvor: <https://www.prognosis-biotech.com/products/elisa-mycotoxins-in-food-and-feed/bio-shield-don-deoxynivalen>

3.4. Čimbenici koji utječu na rast mikotoksigenih plijesni i produkciju mikotoksina

Metabolizam plijesni, a time i produkcija mikotoksina su pod značajnim utjecajem abiotičkih i biotičkih čimbenika. Prema Domaćinović i sur. (2012.) infekcija biljaka, rast i razvoj plijesni u biljci i sinteza mikotoksina ovise o:

- temperaturi okoline,
- aktivitetu vode,
- relativnoj vlažnosti zraka i vlazi tla,
- pH sredine,
- prisustvu kisika,
- prisustvu ili odsustvu kompetitora,
- prisustvu ili odsustvu štetnika,
- primjeni fungicida i njihovoj međusobnoj interakciji.

Temperatura je vrlo bitan faktor za sintezu mikotoksina. Kao što je prikazano u Tablici 3.4.1. svaki rod plijesni ima specifične optimalne temperature pri kojima raste i sintetizira mikotoksine. Za aridna, semiaridna i tropska područja karakteristične su plijesni roda *Aspergillus* koje se razvijaju pri temperaturama od 10 °C do 43 °C, a aflatoksin sintetiziraju između 12 i 40 °C (Thanushree i sur. 2019.). Za infekciju i razvoj najznačajnijih uzročnika fuzarijske truleži klipa i zrna kukuruza (*Fusarium verticilloides*, *Fusarium subglutinans*, *Fusarium graminearum*), optimalne temperature su između 15 i 30 °C. Ostali značajni mikotoksini – citrinin, deoksinovalenon (DON), zearalenon sintetiziraju se na temperaturama između 20 i 30 °C (Thanushree i sur. 2019.). Većina fitopatogenih gljiva prisutnih u području umjerenog pojasa se razvija u temperaturnom rasponu od 5 do 35 °C dok je optimalna temperatura za produkciju mikotoksina nešto niža od navedene (Domaćinović i sur. 2012.).

Biosinteza mikotoksina odvija se u specifičnim mikroklimatskim uvjetima, a najvažniji mikroklimatski čimbenici su količina vlage u zraku i aktivitet vode (Pleadin i sur. 2019.). Kao što je prikazano u Tablici 3.4.1. aktivitet vode iznosi od 0,80 do 0,99 za aflatoksine, od 0,9 do 0,995 za fumonizine te 0,96 za zearalenon (Thanushree i sur. 2019.). Optimalna relativna vlažnost zraka je za većinu plijesni iznad 85%. Učestale male količine oborine dovoljne su za održavanje optimalne mikroklimе za sintezu mikotoksina pa je kontaminacija usjeva mikotoksinima viša u kišnim vegetacijskim sezonama nego u sušnim periodima. Kako navodi Furlan (2016.), poslije 1978. godine kontaminacija žitarica mikotoksinima u Republici Hrvatskoj je pala uslijed frekventnijih sušnih razdoblja tijekom vegetacije.

Plijesan se razvija u širokom rasponu vrijednosti pH (3 – 10) s optimumom između 5.0 i 6.0. Vrste roda *Aspergillus* otpornije su na alkalnu sredinu, a vrste roda *Penicillium* na kiselu (Wheeler i sur. 1991., Domaćinović i sur. 2012.). Prema Thanushree i sur. (2019.) mikotoksini koje producira rod *Aspergillus* (aflatoksin, okratoksin, citrinin) mogu se producirati u vrlo kiselim i vrlo alkalnim uvjetima (2 – 10) dok se mikotoksini koje produciraju rod *Fusarium* i *Penicillium* (fumonizin, deoksinivalenol) mogu producirati samo u vrlo kiselim uvjetima (2.4-3)

Vrste plijesni i njihovi optimalni abiotički uvjeti rasta prikazani su u Tablici 3.4.1.

Tablica 3.4.1. Vrste plijesni koje produciraju mikotoksine i njihovi abiotički optimalni uvjeti rasta

Mikotoksin	Plijesni	Temperatura (°C)	Aktivitet vode (a_w)	pH
Aflatoksin	<i>A.flavus</i>	10-43	0,80-0,99	2-10
	<i>A.parasiticus</i>	32-33	0,80-0,99	3-8
Okratoksin	<i>A.ochraceus</i>	31	0,8	3-10
	<i>P.verrucosum</i>	20	0,86	6-7
Citrinin	<i>A.carneus</i>	20-30	0,75-0,85	2-10
	<i>P.citrininum</i>			
Fumonizin	<i>F.moniliforme</i>	15-30	0,9-0,995	2.4-3
	<i>F.proliferatum</i>			
Zearalenon	<i>A.flavus</i>	25	0,96	3-9
	<i>F.culmorum</i>			
Deoksinivalenol	<i>F.graminearum</i>	26-30	0,995	2.4-3

Izvor: Thanushree i sur. (2019)

Svi rodovi plijesni koji kontaminiraju proizvode za ljudsku prehranu i hranidbu životinja aerobni su organizmi pri čemu je jednako važan kisik iz zraka i kisik koji se nalazi u zaraženom supstratu. Količina kisika koja je potrebna određenoj vrsti plijesni varira; neke vrste mogu se razvijati pri vrlo niskim koncentracijama kisika odnosno visokim koncentracijama ugljikova dioksida (CO₂) i obrnuto (Domaćinović i sur. 2012.).

Antagonizam između određenih bakterija i plijesni vrlo je česta pojava. Prisutnost nekih bakterija može signifikantno usporiti ili spriječiti rast plijesni i sintezu mikotoksina. Također inhibitorno djelovanje na fitopatogene plijesni mogu imati i razne vrste gljiva. Prema Reddy i sur. (2010.), utvrđeno je da su izolati gljiva *Trichoderma viride*, *Rhodococcus erythropolis* i *Trichoderma harzianum* u antagonističkom odnosu s plijesni *Aspergillus flavus*. Nadalje, vrste iz roda *Trichoderma* također imaju inhibitorno djelovanje na vrste iz rodova *Fusarium*, *Sclerotinia* i *Cladosporium* (Barbosa i sur. 2011., Louzada i sur. 2009., Carvalho i sur. 2011.).

Toksikotvorne plijesni pojavit će se na biljnom materijalu samo na odgovarajućoj podlozi, a to su žitarice ili bilo koja ugljikohidratna podloga. Osim toga, nužne su odgovarajuće temperature i količine oborina tijekom rasta i razvoja biljke, no prisutnost toksikotvornih plijesni ne znači automatsku kontaminaciju mikotoksinima. S druge strane, izostanak vidljivih plijesni s namirnice ne znači i izostanak mikotoksina (Pleadin i sur. 2019.).

Reducirana osnovna obrada, nepoštivanje plodoreda, povećana gustoća sklopa te uzgoj u monokulturi pogoduju razvoju mikotoksina već na polju. Mehaniziranim žetvom pri većjoj vlazi i skladištenjem usjeva u velikim skladišnim prostorima s potencijalom za naseljavanje štetnika, gotovo sigurno će doći do kontaminacije mikotoksinima (Furlan 2016.).

Geografska rasprostranjenost mikotoksikotvornih plijesni u direktnoj je korelaciji s njihovim ekološkim potrebama. Termofilne plijesni nastanjuju niže geografske širine, a psihrofilne više geografske širine (Van der Fels-Klerx i sur. 2016.). Zbog visokih temperatura pri kojoj se aflatoksini sintetiziraju, rod *Aspergillus* najčešće kontaminira usjeve u tropskom i suptropskom području u sušnim ili aridnim uvjetima (Južna Amerika, Indonezija, Oceanija), dok su okratoksini, trihoteceni i zearalenon onečišćivači hrane u geografskim širinama povoljnih klimatskih uvjeta - Sjevernoj Americi, Europi i Aziji (Vrdoljak 2017.). Toksikogene plijesni zagađuju usjeve diljem svijeta međutim najviše su pogođene zemlje u razvoju kao što su npr. Paragvaj, Dominikanska republika, Eritreja i Nikaragva (Mupunga i sur. 2014.).

4. Analitičko određivanje mikotoksina

Većina mikotoksina toksična je već pri niskim koncentracijama zbog čega su pouzdane i osjetljive metode prijeko potrebne u kontroli hrane s ciljem očuvanja zdravlja ljudi i smanjenja ekonomskih šteta u poljoprivredi (Grec 2014.). Analiza mikotoksina postupak je od više koraka, a sastoji se od pripreme uzorka, ekstrakcije mikotoksina iz matriksa, identifikacije i kvantifikacije mikotoksina. Identifikacija i kvantifikacija su često otežani zbog heterogene (točkaste) distribucije plijesni u sirovini ili gotovoj namirnici stoga su pravilno uzorkovanje i homogenizacija uzorka preduvjeti za uspješnu detekciju mikotoksina (Pleadin i sur. 2018.). Pouzdanosti metode najviše doprinosi kvalitetno uzorkovanje stoga je Europska Unija opisala metodu uzorkovanja Uredbom Komisije (EU) br. 401/2006 (Alshannaq i Yu 2017.). Problemi se mogu pojaviti i u postupku ekstrakcije, naime zbog prisutnosti srodnih tvari koje maskiraju analitički signal dolazi do povećanja limita detekcije. Postupak ekstrakcije uključuje tekućinsko-tekućinsku ekstrakciju, kruto-faznu ekstrakciju, ekstrakciju superkritičnim tekućinama, gel kromatografiju i imunoafinitetno pročišćavanje (Krpan 2019.). Svaki mikotoksin ima svoju vlastitu kemijsku strukturu stoga jedna tehnika za analizu mikotoksina nije dovoljna, pa je posljedično tome razvijen i validiran velik broj metoda za analizu.

Metode se grupiraju u orijentacijske i potvrdne metode, a osim toga dijele se na kvalitativne i kvantitativne metode. Orijentacijske metode uključuju metode koje na razini koncentracije od interesa imaju manje od 5% lažno negativnih rezultata, anajčešće se kao orijentacijska metoda koristi ELISA. Prednosti orijentacijskih metoda su jednostavnost i brzina, mogućnost analize velikog broja uzoraka i korištenje bezopasnih reagensa, no ove metode nisu specifične te dolazi do unakrsne reakcije sa spojevima slične kemijske strukture. S druge strane, potvrdne metode su sofisticirane selektivne metode koje koriste skupu laboratorijsku opremu, a cilj im je osigurati podatke o kemijskoj strukturi analita (mikotoksina). Najpoznatije metode su tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC), plinska kromatografija (GC), tekućinska kromatografija u kombinaciji s masenom spektrometrijom (LC/MS) i dr.

Kvalitativnim metodama utvrđuje se prisutnost mikotoksina, a kvantitativnim utvrđuje se vrijednost koncentracije analiziranog toksina. Za korištenu metodu nužno je da ima niski limit detekcije, mora biti dovoljno specifična za određivanje niskih koncentracija mikotoksina te prihvatljivo iskorištavati analitički postupak (Pleadin i sur. 2018.).

4.1. Podjela analitičkih metoda

Prema Krpan (2019.) metode za analizu mikotoksina dijele se na:

- Kromatografske metode
- Imunoenzimske metode
- Brze testove

U Tablici 4.1.1. prikazani su prednosti i nedostaci analitičkih metoda koje se koriste pri određivanju mikotoksina.

Tablica 4.1.1. Prednosti i nedostaci analitičkih metoda za određivanje mikotoksina

Metoda	Prednosti	Nedostaci
GC (plinska kromatografija)	-simultano određivanje više mikotoksina -dobra osjetljivost metode -potvrдна metoda -mogućnost automatizacije	-potrebna derivatizacija -skupa oprema -carry over efekt -varijacije u reproducibilnosti i ponovljivosti -potrebno znanje stručnjaka
HPLC (tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti)	-dobra osjetljivost, selektivnost i ponovljivost metode -mogućnost automatizacije -kratko vrijeme trajanja analize	-skupa oprema -mogućnost potrebe derivatizacije -potrebno znanje stručnjaka
LC/MS (tekućinska kromatografija u kombinaciji sa spektrometrijom masa)	-simultano određivanje više mikotoksina -dobra senzitivnost metode -potvrдна metoda -mogućnost automatizacije (autosampler)	-vrlo skupa metoda -potrebno znanje stručnjaka
ELISA	-dobra senzitivnost metode -pogodna kao screening metoda -simultano određivanje više mikotoksina -jeftina metoda	-cross-reaktivnost sa srodним mikotoksinima -mogućnost interferencija u matriksu -mogući lažni pozitivni ili negativni rezultati -potrebna potvrдна metoda
Brzi testovi	-brze, jednostavne, jeftine metode -koriste se kao screening metode	-mogući lažni pozitivni ili negativni rezultati -nedostatak validiranih metoda -cross-reaktivnost sa srodним mikotoksinima

Izvor: Krpan (2019).

4.1.1. Imunoenzimska metoda

Najpoznatija imunoenzimska metoda za određivanje mikotoksina je ELISA. Osim za istraživanje mikotoksina, ELISA se koristi u laboratorijskim ispitivanjima hrane, ekologiji te u medicinskoj dijagnostici (Pleadin i sur. 2018.). Široku uporabu u laboratorijima stekla je zbog svoje jednostavnosti, točnosti i dostupnosti reagensa no s druge strane, kvaliteta ELISA kitova varira od proizvođača do proizvođača, a osim toga mogući su lažni pozitivni i negativni rezultati zbog čega je ELISA potrebno kombinirati s nekom od potvrdnih metoda. Lažno pozitivni rezultati su posljedica upotrebe setova različitih proizvođača na jednom uzorku hrane ili upotrebe jednog seta na više različitih uzoraka iako su oni zapravo predviđeni za jednokratnu upotrebu (Petrić 2016., Krpan 2019.). Kao što je prikazano u Tablici 4.1.1., glavni nedostaci imunoenzimskih metoda su ograničenja u vidu ekstremne selektivnosti; otežano je istovremeno određivanje različitih spojeva i otkrivanja novih vrsta mikotoksina (Anfossi i sur. 2016., Krpan 2019.). Na Slici 11. prikazan je uređaj ELISA za određivanje mikotoksina.



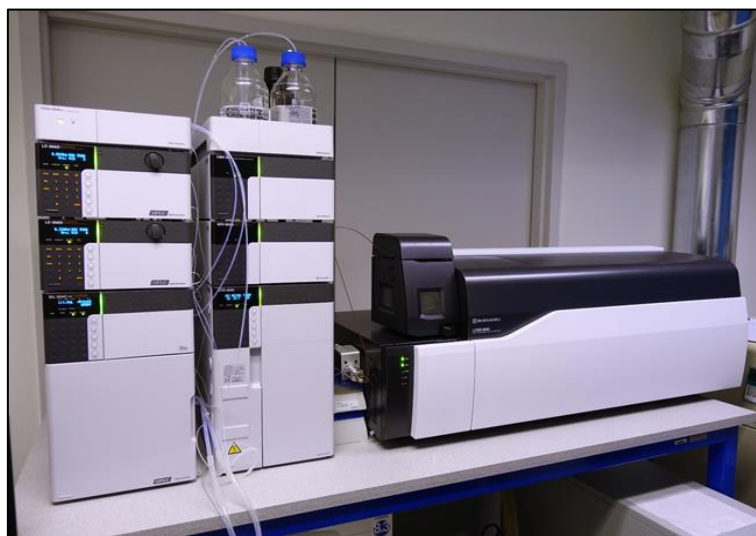
Slika 11. Uređaj ELISA za određivanje mikotoksina

Izvor: <https://toxicology.neogen.com/en/elisa-equipment>

4.1.2. Kromatografske metode

Kromatografske metode podrazumijevaju korištenje sofisticirane laboratorijske opreme i opsežnu pripremu uzoraka što rezultira određivanjem širokog spektra mikotoksina s visokom razinom osjetljivosti, a osim toga koriste se kao referentna metoda za provjeru imunoenzimskih metoda. Kromatografske metode služe za kvantitativno određivanje mikotoksina, a metode koje se za to koriste su tekućinska kromatografija (LC), plinska kromatografija (GC), tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC), tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti u kombinaciji s UV detektorom, detektorom s nizom dioda i masenim spektrometrom i druge. Kromatografske metode u kombinaciji s ultraljubičastom (UV) i fluorescentskom (FLD) detekcijom obično se koriste kao potvrdne analize (Anfossi i sur. 2016.).

Kao što je prikazano u Tablici 4.1.1. prednosti kromatografskih metoda su njihova selektivnost i preciznost, a moguća je i istovremena analiza više različitih mikotoksina. S druge strane, ove metode su izuzetno skupe, a mogu ih izvoditi samo stručno osoblje (Krpan 2019.). Analiza mikotoksina danas se najčešće provodi HPLC metodom čija se tehnika temelji na razlici topivosti sastojaka u pokretnoj i nepokretnoj fazi. Ova metoda vrlo je točna i precizna te se koristi za određivanje koncentracije toksina u žitaricama, alkoholnim pićima, kavi i dr. (Pleadin i sur. 2018.). Na Slici 12. prikazan je uređaj MS/MS HPLC za određivanje mikotoksina.



Slika 12. Uređaj MS/MS HPLC za određivanje mikotoksina

Izvor: <https://www.mccrone.com/mm/lc-msms-chemical-analysis/>

4.1.3. Brzi testovi

U zadnjih nekoliko godina pojavio se interes za brzim testovima koji na mjestu inspekcije u uzorku detektiraju pesticide, mikotoksine, ostatke lijekova i patogene. Ovi testovi osmišljeni su tako da se izvode na licu mjesta, da daju brze rezultate i da se provode prijenosnim uređajima ili bez njih (Alshannaq i Yu 2017.). Kao što je prikazano u Tablici 4.1.1. ove metode isključivo se koriste kao metode probira, jeftine su i brze no kao i kod imunoenzimskih metoda, mogući su lažno pozitivni ili negativni rezultati i unakrsna reaktivnost sa sličnim spojevima (Krpan 2019.). Na Slici 13. prikazan je brzi test za kontrolu higijenske ispravnosti hrane.



Slika 13. Brzi testovi za kontrolu higijenske ispravnosti hrane
 Izvor: <https://www.viams.net/hr/prodajni-program-hr/kontrola-higijene/ridacheck-testovi/>

5. Suzbijanje i prevencija nastanka mikotoksina

Prisutnost plijesni i/ili mikotoksina u hrani može uzrokovati zdravstvene probleme u ljudi i životinja, a predstavlja i ozbiljan gospodarski teret. Stoga je iznimno bitno da je hrana zdravstveno ispravna, a to se osim prevencijom, može postići metodama redukcije i uklanjanja mikotoksina (Rimar 2017.). Uklanjanje mikotoksina vrlo je kompliciran i skup postupak te je stoga najbolje spriječiti pojavu plijesni i produkciju mikotoksina kontrolom okolišnih uvjeta koji bi mogli dovesti do pljesnivosti usjeva već u polju. Također, usjevi se nakon žetve suše, kako bi se spriječila pojava plijesni na njima (Šarkanj i sur. 2010.).

Ako do kontaminacije plijesnima ipak dođe, odabire se mjera koja će efektivno inaktivirati ili ukloniti mikotoksin iz namirnice, a pri odabiru metode također je bitno da metoda ne narušava nutritivna i tehnološka svojstva namirnice niti da stvara toksične nusprodukte (Furlan 2016.). Do danas je razvijeno više metoda za uklanjanje pojedinačnog mikotoksina, međutim metoda koja bi uklonila grupu mikotoksina, još uvijek ne postoji (Grbeša i sur. 2014., Janjčec 2018.). Prema Kabak i sur. (2006.) metode eliminacije i neutralizacije mikotoksina dijele se na fizikalne, kemijske i biološke.

5.1. Fizikalne metode

U fizikalne metode suzbijanja mikotoksina ubrajaju se sortiranje usjeva u skladištu, flotacija, prženje, blanširanje, ekstrakcija pomoću otapala, toplinska inaktivacija ili inaktivacija ozračivanjem te adsorpcija (Janjčec, 2018.).

Nakon žetve, prvi koraci u poljoprivrednoj proizvodnji su sortiranje, pranje i mljevenje. Budući da su pojedini mikotoksini heterogeno raspoređeni u žitaricama, odstranjivanje oštećenih zrna može značajno umanjiti kontaminaciju. Kako bi se detektirala oštećenja na zrnima, koristi se UV svjetlo kao brza i jednostavna metoda optičkog sortiranja. Međutim, ograničenja ove metode su vezana uz mikotoksine koji ne ispoljavaju vidljive simptome na žitaricama i nepouzdanost metode ultraljubičastim svjetlom (Pleadin i sur. 2018.).

Flotacijom na vodi, razina aflatoksina u kukuruzu može se smanjiti za 60% pri čemu se izgubi 22% mase, a flotiranjem na površini zasićene otopine natrijeva klorida (NaCl) razina aflatoksina reducira se za 74% uz minimalni gubitak zrna od 3%. Flotacijom se osim aflatoksina, uklanjaju DON, zearalenon i fumonizin. Razina deoksinivalenola u pšenici smanjena je za 68% flotacijom na površini 30%-ne otopine saharoze, a zearalenon je potpuno uklonjen iz ispitivanog uzorka. Razina fumonizina pala je za 68% flotacijom na površini zasićene vodene otopine soli (Pleadin i sur. 2018.).

Mljevenje je proces fizičkog razbijanja zrna na manje dijelove. Kao i kod ostalih fizikalnih metoda, cilj ove metode je smanjenje količine. Ovaj postupak može samo redistribuirati već prisutne mikotoksine u različite frakcije umjesto da ukloni ili deaktivira mikotoksine (Peng i sur. 2018.).

Termička obrada jedan je od najvažnijih postupaka fizikalnih metoda uklanjanja mikotoksina. U industriji hrane koristi se pri preradi namirnica kako bi se količina mikotoksina svela na minimum. Većinu mikotoksina odlikuje termostabilnost zbog čega priprema hrane na temperaturama do 100 °C nema utjecaja. Postupkom ekstruzije (prženja) razina aflatoksina može se smanjiti za 50-80%, a okratoksina za 97%. Mehanizam uklanjanja mikotoksina temelji se na pretvorbi glavnog spoja u produkte razgradnje (Pleadin i sur. 2018.).

Kako navodi Bazijanec (2015.), djelotvorna metoda prevencije pojave plijesni/mikotoksina je gama zračenje koja zaustavlja sporulaciju plijesni pri čemu se ne mijenja sastav namirnice. Europska zajednica 1999. godine proglasila je 10 kGy kao maksimalnu prosječnu dozu zračenja namirnice; ova doza ne predstavlja opasnost za ljudsko zdravlje, uklanja sve plijesni, a ne mijenja nutritivni sastav namirnice (Pleadin i sur. 2018.). Kod gama zračenja voda je iznimno bitan faktor. Naime, učinak gama zračenja mnogo je bolji u vodenoj otopini dok su pri manjoj količini vode zabilježeni slabiji rezultati zračenja uz stvaranje slobodnih radikala (Janjčec 2018.).

5.2. Kemijske metode

Mikotoksini mogu biti reducirani upotrebom kemikalija, a pri tome se koriste kiseline, lužine, oksidansi i reducensi (Pleadin i sur. 2018.). Kemijske metode su jeftine i imaju visoku učinkovitost, međutim većina kemijskih metoda trenutno je zabranjena radi potencijalnog negativnog utjecaja na zdravlje potrošača (Peng i sur. 2018.). Zbog štetnosti toksičnih ostataka koji nastaju kemijskim reakcijama i nepovoljnog utjecaja na organoleptička i nutritivna svojstva namirnica, danas se kemijske metode koriste samo za redukciju aflatoksina B1 u krmi (Pleadin i sur. 2018.).

Za uklanjanje aflatoksina koriste se propionska kiselina, amonijak, bakreni sulfat, benzojeva kiselina i limunska kiselina koji prevode aflatoksin u manje toksične spojeve kao što su kiseline, lužine, oksidansi i plinovi (Pleadin i sur. 2018.). Organski spojevi (etanol i izopropanol) pokazali su se učinkoviti u uklanjanju aflatoksina no, postupak je skup i narušava nutritivan sastav namirnice zbog problema pri uklanjanju kemikalija iz iste (Bazijanec 2015.). Dobar učinak u uklanjanju mikotoksina postižu amonijak te ozon koji ima iznimna oksidirajuća svojstva, a oba se javljaju u tekućem ili plinovitom obliku (Peng i sur. 2018.).

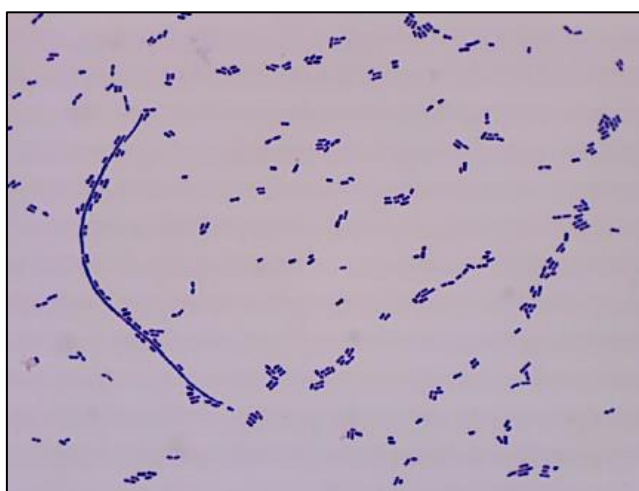
Aktivni ugljen, zeolit, bentonit, natrijev i kalcijev silikat i dr. adsorpcijski su materijali koji se koriste u neutralizaciji mikotoksina zbog svoje sposobnosti vezanja mikotoksina. Međutim, i oni za posljedicu imaju narušavanje nutritivne vrijednosti namirnice jer ne vežu samo mikotoksine već i hranjive tvari. Od navedenih materijala, najbolju moć apsorpcije ima zeolit (Vukšić 2020.).

Antifungalna kemijska sredstva poput klora, ozona, formaldehida, kalcijeva hidroksida, amonijeva hidroksida i dr. koriste se u svrhu prevencije. Osim kemijskih sredstava, koriste se i prirodna ulja klinčića, kurkume, bijelog te crvenog luka (Grbeša i sur. 2014.). Budući da su kemikalije u velikoj mjeri zabranjene kao metoda redukcije mikotoksina u ljudskoj hrani i krmu, ispitivanja učinaka kemikalija u ovom stoljeću se sve manje odrađuju i objavljuju (He i sur. 2010.).

5.3. Biološke metode

Biološke metode uklanjanja mikotoksina temelje se na uporabi različitih mikroorganizama, uključujući bakterije, kvasce i plijesni, koji mogu metabolizirati i inaktivirati mikotoksine (Rimar 2017.). Kako je navedeno u prošlim poglavljima, fizikalne i kemijske metode imaju mnoge nedostatke stoga postoji veliki interes za alternativnim metodama suzbijanja mikotoksina koje su učinkovite i ekološki prihvatljive, a to su mikrobiološke metode (Vukšić 2020.). Mikrobiološke metode koriste mikroorganizme i enzime koji imaju sposobnost pretvaranja toksina u manje toksične, stabilne oblike (Loi i sur. 2017.), a kao dobri mikofiksatori pokazale su se bakterije mliječne kiseline (BMK), plijesni i kvasci (Vukšić 2020.).

Osim vrlo efikasnih *Flavobacterium aurantiacum* B-148, za uklanjanje aflatoksina koriste se bakterije *Nocardia corynebacteroides*, *Nocardia asteroides* IFM 8, *Mycobacterium fluoranthenivorans* sp. nov. *Rhodococcus erythropolis*. Također, upotrebljavaju se sojevi plijesni roda *Aspergillus* koji ne sintetiziraju aflatoksine (*A. niger*, *A. parasiticus*) te filamentozne gljive (*Eurotium herboriorum*, *Rhizopus* spp.) koje biotransformiraju aflatoksin (Grbeša i sur. 2014.). Mikroskopski prikaz *Flavobacterium aurantiacum* prikazan je na Slici 14.



Slika 14. *Flavobacterium aurantiacum*

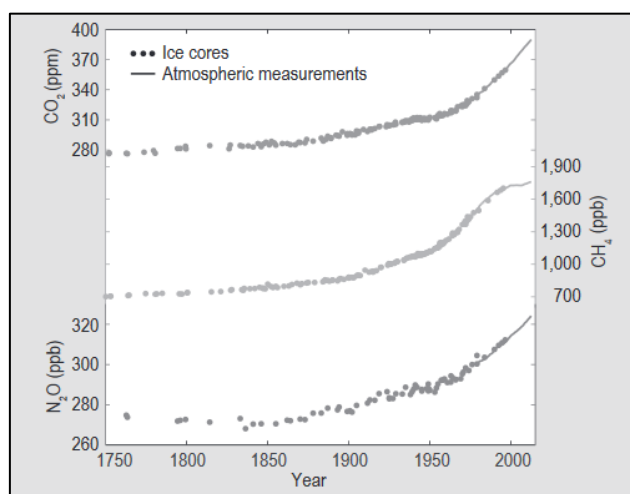
Izvor: <http://www.jcm.riken.go.jp/cgi>

Kako navodi Rimar (2017.) sojevi BMK, propionske bakterije i bifidobakterije posjeduju stanične stijenske koje mogu kovalentno vezati mikotoksine i posljedično tome, bioraspoloživost mikotoksina svesti na minimum u životinjskom organizmu. Polisaharidi i peptidoglikan fizički vežu mikotoksine kod bakterija, a manan i β -glukan su vezivni materijali kod kvasaca (Vukšić 2020.). Za redukciju okratoksina i zearalenona uspješno se koriste kvasci *Trichosporon mycotoxinivorans* MTV 115, a za prevenciju stvaranja mikotoksina u skladištima koriste se enzimi izolirani iz plijesni *Rhizopus stolonifer* i *Aspergillus fumigatus* (Grbeša i sur. 2014.).

6. Klimatske promjene

U posljednjih nekoliko desetljeća, klimatske promjene postale su ozbiljna globalna prijetnja za opstanak čovječanstva (Išasegi 2018.). Klimatske promjene djelomično su rezultat antropogenog djelovanja i to intenzivnog krčenja šuma, izgaranja fosilnih goriva te stočarstva koji značajno utječu na zagrijavanje Zemlje i promjenu klime (Russel i sur. 2009.). Iako se klimatske promjene primjećuju zadnjih 30 godina, do danas ne postoji konsenzus u vezi uzročnika trenutnih klimatskih promjena stoga postoji više definicija klimatskih promjena. *United Nations Framework Convention on Climate Change* (UNFCCC) definira klimatske promjene kao „promjenu klime koja se neposredno ili posredno pripisuje ljudskoj aktivnosti, kojom se na globalnoj razini mijenja sastav atmosfere, pored prirodne klimatske varijabilnosti komparabilne tijekom dužih vremenskih razdoblja“, a *The Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC) definira klimatske promjene kao „bilo koja promjena klime tijekom vremena, uzrokovana varijabilnošću vremenskih prilika ili ljudskom aktivnošću.“ Zajednički nazivnik obje definicije je čovjek koji je ujedno i pokretač i pojačivač klimatskih promjena, a s time se slaže i većina znanstvenika dok s druge strane, manji broj znanstvenika vjeruje da su sadašnje klimatske promjene dio uobičajene cikličke pojave promjene klime koje se događaju već stotinama tisuća godina (Jug 2016.).

Najveći doprinos promjeni klime ima efekt staklenika. Efekt staklenika je proces pri kojemu se toplinsko zračenje s površine Zemlje apsorbira u atmosferi, a apsorbiraju ga staklenički plinovi te dolazi do ponovnog zračenja u svim smjerovima (Išasegi 2018.). Prognozira se da će se Zemlja tijekom 21. stoljeća zagrijati za 1 – 3.7 °C, ovisno o emisiji stakleničkih plinova (Anderson i sur. 2016.). Prema FAO (2016.) najveći emiteri stakleničkih plinova su energija (35%), poljoprivreda (24%), industrija (21%), transport (14%) i stambeni prostori (6%). Na Slici 15. prikazan je rast glavnih stakleničkih plinova (ugljični dioksid – CO₂, metan – CH₄, dušikov oksid – N₂O) od 1750. godine i kako možemo vidjeti na slici, najveći porast stakleničkih plinova u atmosferi dogodio se upravo u ovom stoljeću.



Slika 15. Grafički prikaz rasta 3 najznačajnija staklenička plina od 1750. godine

Izvor: IPCC (2014.)

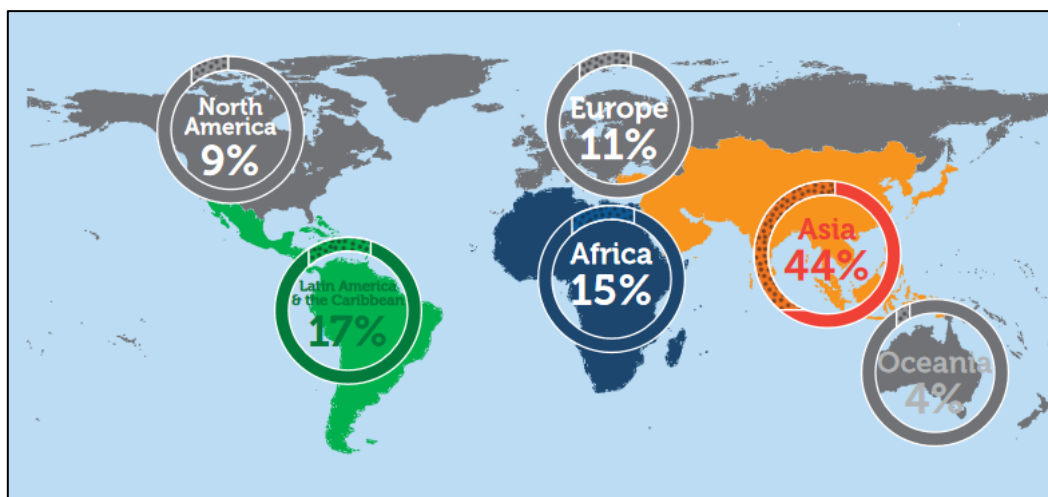
Znanstvenici predviđaju da će klimatske promjene u budućnosti imati velik utjecaj na vegetaciju tako što će neki predjeli postati pustinje, a neki koji danas to nisu, staništa bujne vegetacije. Takvo predviđanje zorno prikazuje korelaciju klime i biljnog svijeta te kako svaka promjena u ekosustavu prvo utječe na vegetaciju (Grubešić 2016.). Osim na biljni svijet, klimatske promjene imaju utjecaj i na životinjski svijet. Biljne i životinjske vrste prilagođavaju se klimatskim promjenama promjenom staništa no budućim rastom temperatura na Zemlji, nekim vrstama prijeti izumiranje (Išasegi 2018.). *Food and Agriculture Organization* (FAO) prognozira da će posljedice klimatskih promjena biti socioekonomske i biofizičke naravi, a vežu se uz sljedeće pokazatelje (Jug 2016.):

- Povećana potrošnja vode,
- Povećan rizik od poplava,
- Povećan rizik od erozije tla i pada kvalitete tla,
- Povećan rizik gubitka staništa,
- Izmijenjeni prirodni ekosustavi, gubitak staništa i vrsta,
- Povećan rizik od šumskih požara,
- Negativne posljedice na poljoprivredu zbog nestašice vode
- Izmijenjen potencijal ribarstva
- Migracije stanovništva
- Povećana materijalna šteta nastala uslijed ekstremnih vremenskih uvjeta
- Posljedice na ljudsko zdravlje

6.1. Utjecaj klimatskih promjena na poljoprivredu

Poljoprivreda je ljudska egzistencijalna osnova. Ali istovremeno ljudska egzistencija je značajnim dijelom narušena upravo poljoprivredom (Jug 2016.). Poljoprivreda svojom primarnom zadaćom, a to je opskrba čovječanstva hranom, utječe na zagađenje tla, vode i zraka. Proces proizvodnje hrane oslobađaju velike količine stakleničkih plinova u atmosferu čime direktno utječu na klimatske promjene (Išasegi 2018.). Prema statističkim podacima FAO (2016.), poljoprivreda je drugi najveći producent stakleničkih plinova i čini 24% ukupnih stakleničkih plinova u Zemljinoj atmosferi Na Slici 16. prikazan je udio emisije stakleničkih plinova iz poljoprivrede po kontinentima. Prema Čustović i sur. (2015.) glavni izvori stakleničkih plinova iz poljoprivrede su:

- mineralizacija organske tvari i emisija CO₂ koji nastaje kao posljedica obrade tla,
- stočarstvo,
- emisija CO₂ koja nastaje uslijed erozije tla,
- uobičajene razine dušikova oksida (N₂O) na tlu i emisija istog uslijed gnojenja dušikom,
- emisija metana (CH₄) s rižinih polja i močvara.



Slika 16. Grafički prikaz udjela emisije stakleničkih plinova iz poljoprivrede po kontinentima

Izvor: Faostat (2016.)

Međutim, poljoprivreda je primarni sektor koji uvelike ovisi o klimi. Porast temperature, promjena obrazaca oborina, geografska preraspodjela štetnika te česte ekstremne vremenske prilike intenzivno će utjecati na poljoprivredu. Ove promjene će imati direktan učinak na rast usjeva, plodnost tla, potrebu za vodom, opskrbu vodom za navodnjavanje, a u konačnici na prihod poljoprivrednika (Fakava 2012.). Osim ekonomskih gubitaka poljoprivrednika, FAO kao globalne posljedice klimatskih promjena na poljoprivredu navodi smanjenje udjela poljoprivrede u bruto društvenom proizvodu (BDP-u), fluktuacije cijena na svjetskom tržištu, migracije i glad (FAO 2007.).

Utjecaj na biljnu proizvodnju ogledat će se kroz skraćenje i produljenje vegetacije, degradaciju tla u vidu smanjene infiltracije, ispiranja hranjiva i erozije te povećanu pojavu bolesti i štetnika dok će se na stočarstvo klimatske promjene negativno odraziti na zdravlje životinja, rast i reprodukciju, prenošenje bolesti i nametnika te pristupačnost i cijena ishrane za životinje (Jug 2016.).

Znanstvenici prognoziraju da će najsiromašniji dijelovi svijeta biti najteže pogođeni klimatskim promjenama. Ova teza potkrijepljena je pretpostavkom da će tamo doći do nestašice vode, a posljedično tome do smanjenja prinosa. Osim toga, pretpostavlja se da će doći do pojave novih vrsta korova i bolesti (Grubešić 2016.). Čustović i sur. (2015.) su ustanovili kako će klimatskim promjenama najviše biti pogođene Južna Azija i Afrika zbog toga što se njihova ekonomija zasniva na primarnom sektoru. Osim toga, Južna Azija često je pogođena klimatskim ekstremima (tropski cikloni, poplave, monsuni).

Današnja predviđanja budućnosti poljoprivrede nisu previše optimistična. Nesigurnost po pitanju opskrbe čovječanstva hranom i klimatske promjene, dva su najveća trenutna globalna izazova. Sa sve većim porastom populacije, a degradiranjem staništa i ekosustava uz istovremene klimatske promjene, pitanje opskrbe čovječanstva hranom postaje sve veći izazov (Čustović i sur. 2015.).

Kako bi se ublažile posljedice klimatskih promjena na poljoprivredu potrebno je prilagoditi poljoprivrednu proizvodnju novonastalim uvjetima. FAO (2007.) definira klimatski odgovornu poljoprivredu kroz tri mehanizma:

- sustavno povećavanje poljoprivredne produktivnosti i prihoda,
- prilagodba i jačanje otpornosti na klimatske promjene,
- smanjenje i/ili uklanjanje emisije stakleničkih plinova.

Povrh toga, provode se posredne i neposredne mjere u poljoprivredi kako bi se ublažile posljedice klimatskih promjena. Konzervacijska poljoprivreda, održivi sustav uzgoja biljaka i životinja, održavanje bioraznolikosti, plodored, odgovorno korištenje vode, praćenje vremenskih prognoza, uzgoj otpornijih sorti i introdukcija stranih kultivara. Međutim ove mjere bit će uspješne pod uvjetom da promjene budu duboko ukorijenjene u cijeli sustav; od kreiranja zakona, preko proizvodnje do potrošnje (Jug 2016.).

Porast temperature na Zemlji, više koncentracije CO₂ u atmosferi te promjene oborinskih režima rezultirat će promjenama u fazama rasta toksikogenih plijesni te promjena u interakciji domaćina i patogena što će imati velik utjecaj na uvjete produkcije mikotoksina koji se razlikuju od patogena do patogena (Moretti i sur. 2018.). Mikotoksikogene plijesni imaju izrazitu mogućnost prilagodbe na nove okolišne uvjete stoga bi u sljedećih 20-25 godina kontaminacija plijesnima mogla postati veliki problem u osiguranju zdravstvene ispravnosti hrane (Battilani i sur. 2016.).

7. Utjecaj klimatskih promjena na produkciju mikotoksina

Trendovi klimatskih promjena – povećanje temperature zraka i mora, povećanje koncentracije CO₂ te česti vremenski ekstremi značajno će utjecati na sva živa bića, ljude, životinje, biljke i mikroorganizme (Marvin i sur. 2013.).

Klimatske promjene osim što ostavljaju velike posljedice na poljoprivredu, dovode u pitanje i zdravstvenu ispravnost hrane.

Gotovo svaka vrsta plijesni koja kontaminira usjeve mikotoksinima ima raspon optimalnih ekoloških uvjeta u kojima živi, raste i sintetizira mikotoksine. Temperatura, relativna vlažnost zraka, oborine i koncentracija CO₂ okolišni su čimbenici koji su pod utjecajem klimatskih promjena. Kada promjene nastupe, doći će do geografske preraspodjele u populaciji plijesni i do promjene u obrascima produkcije mikotoksina (Miraglia i sur 2009., Van der Fels-Klerx i sur. 2016). Također, očekivane su češće epidemije kukaca koje će se s porastom temperature na kopnu kretati prema sjevernijim geografskim širinama gdje će širiti bolesti i činiti štete na biljnim vrstama koje su onda podložnije kontaminaciji mikotoksinima (Van der Fels-Klerx i sur. 2016.).

Prema IPCC (2007.), količina padalina će se povećati na višim geografskim širinama uslijed globalnog zagrijavanja koje uzrokuje više isparavanja vode iz kopna i oceana, a osim veće količine padalina problem će predstavljati periodičnost i intenzitet padalina. S druge strane, količina padalina će se smanjiti u suptropskim i aridnim regijama gdje se očekuju i češće suše tijekom ljeta. Prognozirano je daljnje povećanje koncentracije CO₂ u atmosferi koja je već sada viša za 100 ppm od koncentracije u predindustrijsko vrijeme, a zbog globalnog zagrijavanja kapacitet kopna i mora za apsorbiranje CO₂ će se smanjiti. Radi povećanja CO₂ puferni kapacitet mora i oceana smanjit će se što će za posljedicu imati snižavanje pH za 0,14 do 0,35. Očekuje se rast prosječne temperature za 1 – 3,7 °C (Anderson i sur. 2016.) te su vrlo vjerojatne ekstremno visoke temperature u određenim područjima te u skladu s godišnjim dobom doći će do izražaja sve učestaliji toplinski valovi i valovi hladnoće (Solomon i sur. 2007.).

Prema Paterson i Lima (2017a.) osnovne premise efekta klimatskih promjena na mikotoksine su:

- Migracija termotolerantnih plijesni (npr. *A. flavus*) iz tropskih regija u regije s trenutno umjerenom klimom
- Postojat će regije gdje usjevi više neće rasti stoga problema s mikotoksinima neće biti
- Postojat će regije s temperaturama iznad 41 °C gdje će aflatoksikogene plijesni zamijeniti termofilne gljive

Mnoga trenutna predviđanja o utjecaju klimatskih promjena na mikotoksikotvorne plijesni temelje se na povijesnim ili trenutnim klimatskim uvjetima s naglaskom na odnos između dostupnosti vode i temperature (Medina i sur. 2015.). Općenito, očekuje se da će klimatske promjene povećati kontaminaciju usjeva mikotoksinima, međutim zbog kompleksnosti odnosa između plijesni, usjeva i okolišnih čimbenika, nužna su daljnja istraživanja kako bi se potvrdila ova teza (Marroquín-Cardona i sur. 2014., Medina i sur. 2014., Van der Fels-Klerx i sur. 2016.).

7.1. Utjecaj čimbenika klimatskih promjena na rast plijesni i produkciju mikotoksina

Medina i sur. (2017.) proveli su istraživanje o utjecaju klimatskih čimbenika na rast mikotoksigenih plijesni i produkciju mikotoksina. Bazirano na tadašnjim podacima, očekuje se da će se koncentracija CO₂ udvostručiti ili utrostručiti, a temperatura porasti za 2 do 5 °C dok će sušni periodi postat sve učestaliji. Ovo istraživanje utemeljeno je na ispitivanju Magan i sur. (2011.) koji su testirali optimalne i rubne uvjete temperature i vodnog aktiviteta određenih mikotoksigenih plijesni za produkciju mikotoksina. Ispitivanje je provedeno na način da su ispitivali kako sušni stres (smanjen aktivitet vode) i promjena temperature za 3 i 5 °C utječe na rast plijesni i produkciju mikotoksina. U potpunosti prikazani su u Tablici 6.1.1.

Tablica 7.1.1. Promjene u rastu plijesni i produkciji mikotoksina kao rezultat promjene temperature i vodnog stresa

	Rast plijesni					Produkcija mikotoksina			
	a_w	Temp. max. μ	$\mu+3$	$\mu+5$		a_w	Temp. max. τ	$\tau+3$	$\tau+5$
<i>F.verticillioides</i>	0.95	25	4-3	4-3	FUM	0.95	20	10000-100	100-50
	0.90	25	0.5-0.1	NR		0.93 ^a	15	50-10	50-10
<i>F.culmorum</i>	0.95	20	3-1	3-1	DON	0.95	20	0.25-0.1	0.1-0.01
	0.90	20	1-0.1	1-0.1		0.93 ^a	20	NP	NP
<i>F.graminearum</i>	0.95	20	4-2	2-1	DON	0.95	20	1-0.1	0.1-0.01
	0.90	20	1-0.1	1-0.1		0.93 ^a	-	NP	NP
<i>F.langsethiae</i>	0.98	25	4.6-4.1	3.6-3.1	T-2, HT-2	0.98	25	13-14	14-15
	0.95	25	1.6-1.1	1.6-1.1		0.95	25	0-1	0-1
<i>A.carbonarius</i>	0.95	30	>6	6-5	OTA	0.95	20	1000-500	500-NP
	0.90	30	4-3	4-3		0.90	20	500-NP	500-NP
<i>A.flavus</i>	0.95	35	5.6	5.0	AFB1	0.95	37	102-138	6.1-NP
	0.90	37	1.4	0.7		0.90	37	1-NP	NP
<i>P.verrucosum</i>	0.97	25	1.8-1.9	0.9-1	OTA	0.97	20	75-70	>80
	0.90	25	2-1	2-0.5		0.90	20	50-30	50-30

Izvor: Medina i sur. (2015.)

- A_w – aktivitet vode
- Temp. max. μ - maksimalna temperatura pri kojoj će plijesni rasti (mm/dan⁻¹)
- $\mu+3$ – promjena maksimalne temperature rasta za 3 °C
- $\mu+5$ - promjena maksimalne temperature rasta za 5 °C
- Temp. max. τ – optimalna temperatura za produkciju mikotoksina (μg ml⁻¹)
- $\tau+3$ – produkcija mikotoksina uz povećanje temperature za 3 °C (μg ml⁻¹)
- $\tau+5$ - produkcija mikotoksina uz povećanje temperature za 5 °C (μg ml⁻¹)
- NR – nema rasta plijesni
- NP – nema produkcije mikotoksina
- ^a – najniži mogući aktivitet vode za produkciju mikotoksina

Prema dobivenim rezultatima u Tablici 7.1.1. mikotoksikogene plijesni bi sporije rasle u većini slučajeva, a produkcija mikotoksina bila bi slična ili niža u uvjetima vodnog stresa i više temperature. Na rast plijesni i produkciju mikotoksina više je utjecao stres vode nego temperatura što znači da bi pri višim temperaturama na Zemlji i nedostatku oborina produkcija mikotoksina bila manja nego u slučaju velikih oborina.

Također, ispitivao se utjecaj povišene koncentracije CO₂ (Medina i sur. 2017.). Utvrđeno je da će udvostručenje ili utrostručenje sadašnje razine CO₂ (350-400 ppm) imati velik utjecaj na sve živuće organizme na svijetu. Fotosinteza, sadržaj šećera i škroba i ukupna biomasa usjeva povećala bi se uz povišene koncentracije CO₂, a time bi posebno bile pogođene žitarice. Općenito, plijesni su tolerantne na više koncentracije CO₂ (kao samostalni okolišni čimbenik) međutim povišena koncentracija CO₂ u kombinaciji s drugim klimatskim faktorima, mijenja obrasce njihovog rasta i plijesni tada postaju manje tolerantne (Vary i sur. 2015., Medina i sur. 2015.).

7.2. Utjecaj klimatskih promjena na produkciju aflatoksina

Aflatoksin se sintetizira pri rasponu vodnog aktiviteta od 0,80 do 0,99 te optimalnoj temperaturi od 28 do 30 °C, a kada temperatura premaši 37 °C produkcija aflatoksina opada (Wu i Mitchell 2016.).

Povećanje prosječne temperature na Zemlji dovest će do migracije *Aspergillus* spp. u predjele s temperaturama bližim njihovom temperaturnom optimumu odnosno u sjevernije krajeve. *Aspergillus* spp. se inače pojavljuje u tropskim i suptropskim regijama gdje prevladavaju visoke temperature i vlažni uvjeti. Unazad 20 godina, *Aspergillus* spp. nikad nije evidentiran u Europi za koju je karakteristična umjerena klima, no sve učestaliji toplinski valovi i ekstremne temperature u Europi dovele su do pojave *Aspergillus flavus* na kukuruzu. Kontaminacija aflatoksinom zabilježena je 2003. i 2008. godine za vrijeme iznimno vrućih ljeta u Italiji, a 2013. države bivše Jugoslavije zahvatila je epidemija aflatoksina na kukuruzu (De Rijk i sur. 2015.). Prema navedenom može se zaključiti da će se klimatske promjene u pogledu aflatoksina najviše odraziti upravo na područja umjerenog klimatskog pojasa što može potkrijepiti činjenica da su aflatoksini najopasnija vrsta mikotoksina stoga postoji veći rizik od kontaminacije nego u hladnim klimatskim područjima gdje se temperatura neće podići na optimalnu temperaturu za produkciju aflatoksina (Russel i sur. 2009.). Također, prognozira se izumiranje *A. flavus* i *A. parasiticus* u trenutno vrućim regijama što će povoljno utjecati na tamošnju poljoprivrednu proizvodnju (Paterson i Lima 2017a.).

Prema istraživanju Giorni i sur. (2008.) u *in vitro* uvjetima s 25% većim udjelom CO₂, rast *Aspergillus flavus* je bio inhibiran, a u uvjetima sa 50% i 75% većim udjelom CO₂ sinteza AFB1 se više nije odvijala. Također, ispitivana je produkcija AFB1 u uvjetima s većim vodnim aktivitetom. Aktivitet vode povišen je sa 0,92 na 0,95 i utvrđeno je da je pri manjem aktivitetu vode (0,92) produkcija AFB1 pala za 81%. Dakle, porast CO₂ kao samostalnog čimbenika, neće utjecati na produkciju AFB1 dok će veća količina vode odnosno padalina, imati za rezultat povećanu produkciju AFB1.

7.3. Utjecaj klimatskih promjena na produkciju okratoksina

Okratoksin produciraju vrste *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus carbonarius*, *Penicillium verrucosum*, *Penicillium viridicatum* i dr., a najčešće se pojavljuje na žitaricama, kavi, začинима, mahunarkama, sušenom voću te u vinu, pivu i voćnim sokovima kao rezultat loše poljoprivredne prakse (Wu i Mitchell 2016., Miličević 2014.). Optimalni ekološki uvjeti za produkciju OTA ovise od roda plijesni koji ga producira; tako je za rod *Penicillium* optimalna temperatura 20 °C te aktivitet vode 0,86 dok je za rod *Aspergillus* optimalna temperatura 31 °C i aktivitet vode 0,8 (Thanushree i sur. 2019.).

Širok raspon temperatura pri kojima se okratoksin sintetizira ga čini mikotoksinom koji je rasprostranjen diljem svijeta zbog čega je teško procijeniti utjecaj klimatskih promjena na njihovu distribuciju. Garcia-Cela i sur. (2015.) zaključili su da će se plijesni prilagoditi klimatskim promjenama; u sušnim i vrućim uvjetima *Aspergillus tubingensis* i *Aspergillus niger* postat će zastupljenije vrste od *Aspergillus carbonarius* zbog mogućnosti da se bolje prilagode vrućim i vrlo suhim uvjetima. Prema Paterson i sur. (2017b.) najviša koncentracija OTA u vinu pronađena je na 30 °C dok je na 20 °C koncentracija OTA bila znatno niža. Nadalje, najveća relativna vlažnost zraka (100%) rezultirala je najvećom koncentracijom OTA u vinu, a padom relativne vlažnosti zraka ispod 80%, produkcija OTA u vinu značajno je pala.

Utjecaj klimatskih promjena (povišena temperatura, a_w i koncentracija CO₂) na produkciju OTA u zrnu kave ispitivano je u *in vitro* uvjetima, a ispitivanje je vršeno na vrstama *A. wetserdijkiae*, *A. ochraceus*, *A. steynii* i *A. carbonarius*. Dobiveni rezultati utvrdili su da klimatske promjene mogu stimulirati rast i proizvodnju OTA (*A. wetserdijkiae*) dok su kod drugih vrsta (*A. carbonarius*) klimatske promjene usporile produkciju OTA (Akbar i sur. 2016.).

Paterson i Lima (2017a.) prognoziraju da će aflatoksini postati daleko više zastupljeni u usjevima i namirnicama od okratoksina jer će temperature na Zemlji postati prikladnije termotolerantnim vrstama roda *Aspergillus* koji produciraju aflatoksine nego vrstama plijesni koje produciraju okratoksine.

7.4. Fuzarijski mikotoksini i fuzarijska palež klasova

Fumonizin je mikotoksin kojeg producira rod plijesni *Fusarium*, a pojavljuje se najčešće na kukuruzu i proizvodima od kukuruza, riži i ječmu. Prema Thanushree i sur. (2019.) optimalan raspon aktiviteta vode iznosi od 0,9 do 0,995, a optimalna temperatura za sintezu fumonizina iznosi od 15 do 30 °C. Zbog ovako širokog temperaturnog raspona ovaj mikotoksin pojavljuje se diljem svijeta.

Fusarium culmorum i *Fusarium graminearum* vrste su plijesni koje uzrokuju fuzarijsku palež klasova te produciraju deoksinivalenol, a njihovo pojavljivanje na kukuruzu uvjetuju u najvećoj mjeri klimatski uvjeti. Europu odlikuje velik raspon klimatskih uvjeta, od hladne borealne klime na sjeveru do sredozemne na jugu zbog čega se na kontinentu nalazi velik broj vrsta s različitim okolišnim uvjetima koji su im potrebni za rast.

Fusarium graminearum plijesan je koja je u prošlom stoljeću dominirala u središnjoj i južnoj Europi dok se *Fusarium culmorum* najčešće pojavljivao u sjevernim predjelima Europe. No u posljednjih 10 godina zabilježen je porast prisutnosti *Fusarium graminearum* na žitaricama u sjevernim dijelovima Europe čime je situacija značajno izmijenjena (Moretti i sur. 2018.).

Prema istraživanju utjecaja klimatskih promjena na rast pšenice, Madgwick i sur. (2011.) ustanovili su kako će epidemija fuzarijske paleži klasova i kontaminacija deoksinivalenolom biti sve češća pojava u budućnosti u sjevernim dijelovima Europe zbog sve veće prisutnosti *Fusarium graminearum*. Nadalje, Paterson i Lima (2017.) utvrdili su kako će promjenom klime, prisutnost *F. langsethiae* u Ujedinjenom Kraljevstvu doprinijeti češćoj kontaminaciji zobi i ječma s T-2 i HT-2 toksinom, a u Poljskoj se očekuje kontaminacija i T-2 toksinom i deoksinivalenolom zbog sve učestalijeg rasta *F. poae* i *F. graminearum* na usjevima.

Poput aflatoksina, produkcija fumonizina je najviše pod utjecajem dostupnosti vode i temperature. Međutim, istraživanje Marin i sur. (2013.) pokazalo je kako ekspresija gena FUM1 koji kodira za enzim poliketid sintazu koja katalizira prvi korak u sintezi fumonizina, ima niži raspon temperature i aktiviteta od navedenog. Naime, sve temperature ispitivanja pri aktivitetu vode od 0,95 negativno su utjecale na ekspresiju FUM1 gena, a jednaki rezultat se dobio kada se temperatura postavila na 35 °C uz sve vrijednosti aktiviteta vode. Ovi rezultati istraživanja pokazuju kako će više temperature i više padalina dovesti do reducirane sinteze fumonizina, a to znači u konačnici da će klimatske promjene imati pozitivan utjecaj na sigurnost hrane, barem što se tiče produkcije fumonizina.

Vaughan i sur. (2014.) istraživali su korelaciju između povišene koncentracije CO₂ i kolonizacije *F. verticillioides*. Naime, dobiveni rezultati pokazali su da je kukuruz pri duplo višoj koncentraciji CO₂ od uobičajenog (800 ppm) osjetljiviji na kolonizaciju *F. verticillioides*. Istovremeno povišena koncentracija nije imala utjecaja na produkciju fumonizina B1 niti je njegova produkcija bila proporcionalna s biomasom *F. verticillioides* na ispitivanom kukuruzu.

Kako bi se smanjila kontaminacije usjeva mikotoksinima, u svijetu će uz mjere prevencije biti potrebno razviti modele za predviđanje kontaminacije te poboljšati baze podataka o geografskoj rasprostranjenosti glavnih mikotoksikogenih plijesni (Moretti i sur. 2018.).

8. Zaključak

Mikotoksini kao sekundarni metaboliti plijesni su onečišćivači usjeva i hrane, a osim brojnih ekonomskih šteta u poljoprivredi, uzročnici su mikotoksikoza koje imaju akutne ili kronične učinke na ljude i životinje. Ukoliko se mikotoksini sintetiziraju na usjevima, smanjuju njihovu kvalitetu i tržišnu cijenu, a obrada i suzbijanje mikotoksina povećava trošak poljoprivrednika. Unatoč dobroj poljoprivrednoj praksi i higijenskim mjerama, kontaminacija usjeva i hrane mikotoksinima je neizbježna pojava s kojom se poljoprivrednici diljem svijeta suočavaju.

Klimatske promjene odražavaju se na sve sfere života na Zemlji. Socioekonomske i biofizičke posljedice klimatskih promjena svakom godinom sve se više osjećaju, a poljoprivreda i industrija hrane kao grane privrede, najviše će osjetiti posljedice klimatskih promjena. Klimatske promjene dovest će u pitanje i zdravstvenu ispravnost hrane.

Svaka mikotoksikotvorna vrsta plijesni ima vlastite ekološke uvjete u kojima raste, sintetizira mikotoksine i kontaminira poljoprivredne usjeve. Međutim, podizanje prosječne temperature na Zemlji i koncentracije CO₂ u atmosferi te sve češći ekstremni vremenski uvjeti promijenit će ustaljene obrasce produkcije mikotoksina što će postaviti izazov za poljoprivrednike po pitanju higijenske ispravnosti hrane, a to će se pogotovo izraziti u zemljama u razvoju. Aflatoksini, kao jedna od najopasnija vrsta mikotoksina, će se zbog klimatskih promjena češće pojavljivati u dijelovima svijeta s umjerenom klimom, gdje će zadati velike probleme tamošnjim poljoprivrednicima zbog velikih troškova koje donosi njihovo uklanjanje iz hrane. Istovremeno u tropskim predjelima neke vrste koje produciraju aflatoksine mogle bi izumrijeti zbog previsokih temperatura što bi se pozitivno odrazilo na tamošnju poljoprivredu. U slučaju okratoksina, povećat će se kontaminacija usjeva rodom *Aspergillus*, dok u drugim slučajevima razine okratoksina ostat će slične kao i prije klimatskih promjena. Za fuzarijske mikotoksine temperatura će u krajevima s umjerenom klimom postati previsoka stoga će vrste plijesni *Fusarium* migrirati u hladnije krajeve. U umjerenom klimatskom pojasu pojava fuzarijskih mikotoksina bit će sve rjeđa dok će trenutno hladniji predjeli biti izloženi fuzarijskoj paleži klasova i kontaminaciji žitarica i kukuruza mikotoksinima.

Sve brojnija populacija ljudi na Zemlji u kombinaciji s klimatskim promjenama dovode u pitanje opskrbu čovječanstva hranom. Kako bi hrana u budućnosti ostala zdravstveno ispravna, potrebna su daljnja istraživanja po pitanju utjecaja klimatskih promjena na produkciju mikotoksina, u svrhu očuvanja zdravlja potrošača te kako bi se ekonomske štete izazvane kontaminacijom mikotoksinima svele na minimum.

9. Popis literature

1. Abbas M., Naz S.A., Shafique M., Jabeen N., Abbas S. (2019). Fungal contamination in dried fruits and nuts: a possible source of mycosis and mycotoxicosis. *Pak. J. Bot.* 51(4): 1523-1529
2. Abramson D., Lombaert G., Clear R.M., Sholberg P., Trelka R., Rosin E. (2009). Production of patulin and citrinin by *Penicillium expansum* from British Columbia (Canada) apples. *Mycotoxin Res.* 25:85–8
3. Akbar A. (2015). Growth and ochratoxin a production by *Aspergillus* species in coffee beans: impact of climate change and control using O₃. Doktorski rad. Cranfield University
4. Alshannaq A., Yu J.H. (2017). Occurrence, Toxicity, and Analysis of Major Mycotoxins in Food. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 14. 632-652
5. Anderson T.R., Hawkins E., Jones P.D. (2016). CO₂, the greenhouse effect and global warming: from the pioneering work of Arrhenius and Callendar to today's Earth System Models. *Endeavour* 40. 3, 178-187
6. Anfossi L., Giovannoli C., Baggiani C. (2016). Mycotoxin detection. Current opinion in Biotechnology. 37:120-126
7. Baker S.E., Bennett J.W. (2008). Genomics of the *Aspergilli*. U: An overview of the Genus *Aspergillus*. 3-11
8. Barbosa M.A.G., Rehn K.G., Menezes M., Mariano R.L.R. (2001). Antagonism of Trichoderma species on Cladosporium herbarum and their enzymatic characterization. *Brazilian Journal of Microbiology*. 32:98-104
9. Batillani P., Toscano P., Van der Fels-Klerx H.J., Moretti A., Camardo Leggieri M., Brera C., Rortais A., Goumperis T., Robinson T. (2016). Aflatoxin B1 contamination in maize in Europe increases due to climate change. *Scientific reports* 6.24328
10. Bazijanec D. (2015). Primjena X zračenja u prevenciji izloženosti mikotoksinima. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko – biokemijski fakultet. Zagreb
11. Bažok R., Đugum J., Grbeša D. Hažisomanović M., Havranek J., Ivanković A., Jakopović I., Orešković S., RupiĆ V., Samaržija D., Tudor Kalit M. (2014). Od polja do stola. M.E.P. d.o.o. Zagreb
12. Bennet J. W., Klich M. (2003). Mycotoxins. *Clinic. Microbio.* 16, 497-516
13. Bhat R., Ravishankar V.R., Karim A.A. (2010). Mycotoxins in food and feed: Present Status and Future Concerns. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 9, 57-81
14. Bryden W.L. (2019). Mycotoxins: Natural Food Chain Contaminants and Human Health. U: Mycotoxins in food chain and human health implications. (Ur. Nriagu J.O.). Encyclopedia of Environmental Health. 898-905

15. Carvalho D.D.C., Mello S.C.M., Lobo Junior M., Silva M.C. (2011). Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* in vitro e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. *Tropical Plant Pathology*. 36:36-55
16. Čustović H., Ljuša M., Sitaula B.K. (2015.). Adaptacija na klimatske promjene u sektoru poljoprivrede. Univerzitet u Sarajevu Poljoprivredno-Prehrambeni fakultet. Sarajevo
17. De Rijk T.C., Van Egmond H., Van der Fels-Klerx H.J. (2015). A study of the 2013 Western European issue of aflatoxin contamination of maize from the Balkan area. *World Mycotoxin Journal*. 8(5):641-651
18. Delaš F. (2010). Mikrobni toksini. U: *Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani*. Hrvatska agencija za hranu. Osijek. 31-44.
19. Domaćinović M., Ćosić J., Klapac T., Peraica M., Mitak M. (2012). Znanstveno mišljenje o mikotoksinima u hrani za životinje. Hrvatska agencija za hranu.
20. Domijan A.M. (2012). Fumonisin B1: A neurotoxic mycotoxin. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*. 531-544
21. Duarte S.C., Pena A., Lino C.M. (2011). Human ochratoxin A biomarkers – From exposure to effect. *Critical reviews in toxicology*. 41(3): 183-212
22. Duraković S., Duraković L. (2000). Specijalna mikrobiologija. Durieux. 3-58
23. European Food Safety Authority (2004). Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to aflatoxin B1 as undesirable substance in animal feed. *The EFSA Journal* 39, 1-27
24. Fakava V.T. (2012). Climate change impact on agriculture and food security. [Powerpointprezentacija].
https://unfccc.int/files/adaptation/groups_committees/ldc_expert_group/application/pdf/leg_2012_pacific_workshop_fao_presentation.pdf – pristup 18.08.2020.
25. Food and agriculture organisation (2007). Adaptation to climate change in agriculture, forestry and fisheries: Perspective, framework and priorities. Report of the FAO Interdepartmental Working Group on Climate Change. 1-12
26. Food and agriculture organisation (2016). Greenhouse gas emissions from agriculture, forestry and other land use. [online] <http://www.fao.org/3/a-i6340e.pdf> - pristup 11.9.2020.
27. Furlan I. (2016). Određivanje mikotoksina u stočnoj hrani – kukuruz u zrnu, završni rad. Sveučilište Josipa Juraja Strossmayera u Osijeku. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Osijek
28. García-Cela E., Crespo-Sempere A., Gil-Serna J., Porqueres A., Marin S. (2015). Fungal diversity, incidence and mycotoxin contamination in grapes from two agroclimatic Spanish regions with emphasis on *Aspergillus* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 95, 1716–1729
29. Giorni P., Battilani P., Pietri A., Magan N. (2008). Effect of a_w and CO₂ level on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production in high moisture maize post-harvest. *International Journal of Food Microbiology* 122. 1-2, 109-113

30. Grbeša D., Duvnjak M., Kljak K. (2014). Ublažavanje pojave mikotoksina u krmi i njihov učinak na životinje. *Krmiva* 56. 1: 15-32
31. Grec M. (2014). Mikotoksini u žitaricama žetve 2013. u Hrvatskoj. Diplomski rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Osijek
32. Grubešić N. (2016). Klimatske promjene u poljoprivredi. Završni rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Osijek
33. Haque A.M., Wang Y., Shen Z., Li X., Kashif Saleemi M., He C. (2020). Mycotoxin contamination and control strategy in human, domestic animal and poultry: A review, *Microbial Pathogenesis*. 142:104095
34. He J., Zhou T., Young J.C., Boland G.J., Scott P.M. (2010). Chemical and biological transformations for detoxification of trichothecene mycotoxins in human and animal food chains: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 21, 67–76
In food: An exposition on species. *Trends in Food Science & Technology* 93. 69-80
35. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) (2014). IPCC Fifth Assessment report: Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. 113-142
36. International Agency for Research on Cancer (IARC) (1993). Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 56. IARC. Lyon
37. Išasegi V. (2018). Stavovi i mišljenja poljoprivrednih savjetnika o utjecaju klimatskih promjena na poljoprivredu. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet. Zagreb
38. Janjčec A. (2018). Put mikotoksina u prehrambenom lancu. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet. Zagreb
39. Jug D. (2016). Poljoprivreda – dionik kauzalnosti klimatskih promjena. *Diacovensia: teološki prilozi*, Vol. 24. No. 1. 65-79
40. Kabak B., Dobson A. D., Var I. I. L. (2006). Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*. 46 (8), 593-619
41. Kanižai Šarić G., Klapac T., Šarkanj B., Milaković Z., Jug I. (2013). Inhibicija rasta značajnih mikotoksikogenih gljiva djelovanjem antifungalnih tvari u stočnoj hrani. *Krmiva* 55:77-88
42. Kebede H., Liu X., Jin J., Xing F. (2019). Current status of major mycotoxins contamination in food and feed in Africa. *Food Control*.
43. Knežević D., Sokolić D., Mikec D., Miloš S., Jurković M. (2013). Sigurnost i kakvoća hrane za životinje u Republici Hrvatskoj u 2013. godini. *Krmiva* 56. 3:125-136
44. Krpan M. (2019). Primjena HPLC-MS/MS multi-mikotoksinske metode za određivanje mikotoksina koji se pojavljuju u pekmezu. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu Prebrambeno-Biotehnološki fakultet. Zagreb

45. Loi M., Fanelli F., Liuzzi V.C., Logrieco A.F., Mulè G. (2017). Mycotoxin Biotransformation by Native and Commercial Enzymes: Present and Future Perspectives. *Toxins* 9(4): 1-31
46. Louzada G.A. de S., Carvalho D.D.C., Mello S.C.M., Lobo Junior M., Martins I., Brauna L.M. (2009). Potencial antagônico de *Trichoderma* spp. originários de diferentes agroecossistemas contra *Sclerotinia sclerotiorum* e *Fusarium solani*. *Biota Neotropica*. 9:145-149
47. Madgwick J.W., West J.S., White R.P., Semenov M.A., Townsend J.A., Turner J.A. (2011). Impacts of climate change on wheat anthesis and fusarium ear blight in the UK. *European Journal of Plant Pathology*. 129, 117–131
48. Magan N., Medina A., Aldred D. (2011). Possible climate-change effects on mycotoxin contamination of food crops pre- and postharvest. *Plant Pathology*. 60: 150-163
49. Magnoli A.P., Poloni V.L., Cavaglieri L. (2019). Impact of mycotoxin contamination in the animal feed industry. *Current opinion in Food Science* 29. 99-108
50. Marin P., de Ory A., Cruz A., Magan N., Gonzalez-Jae, M.T.(2013). Potential effects of encironmental conditions on the efficiency of the antifungal tebuconazole controlling *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* growth rate and fumonisin biosynthesis. *International Journal of Food Microbiology* 165: 251-258
51. Marroquín-Cardona A., Johnson N., Phillips T. and Hayes A. (2014). Mycotoxins in a changing global environment – a review. *Food and Chemical Toxicology* 69: 220-230
52. Marvin H.J.P., Kleter G.A., Van der Klerx-Fels H.J., Noordam M.Y., Franz E., Willems Don J.M., Boxall A. (2013). Proactive systems for early warning of potential impacts of natural disasters on food safety: Climate-change-induced extreme events as case in point. *Food Control* 34. 444-456
53. Medina A., Rodríguez A., Sultan Y., Magan N., (2014). Climate change factors and *Aspergillus flavus*: effects on gene expression, growth and aflatoxin production. *World Mycotoxin Journal* 8: 171-179
54. Medina A., Akbar A., Baazeem A., Rodriguez A., Magan N. (2015). Climate change and mycotoxigenic fungi: impacts on mycotoxin production. *Current opinion in food science*. 5:99-104
55. Medina A., Akbar A., Baazeem A., Rodriguez A., Magan N. (2017). Climate change, food security and mycotoxins: Do we know enough? *Fungal biology reviews*. 31:143-154
56. Miličević D., Nedeljković-Trailović J., Mašić Z. (2014). Mikotoksini u lancu ishrane – analiza rizika i značaj za javno zdravstvo. *Tehnologija mesa* 55. 1,22-38
57. Miličević, D.R., Škrinjar, M., Baltić, T. (2010). Real and perceived risks for mycotoxin contamination in foods and feeds: challenges for food safety control. *Toxins*, 2:572-592
58. Mitak M. (2015). Patologija hranidbe domaćih životinja. Medicinska naklada. Zagreb
59. Moretti A., Pascale M., Logrieco A.F. (2018). Mycotoxin risks under a climate change scenario in Europe. *Trends in Food Science & Technology*. 1-13

60. Mupunga I., Lebelo S. L., Mngqawa P., Rheeder J. P., Katerere D. R. (2014). Natural Occurrence of Aflatoxins in Peanuts and Peanut Butter from Bulawayo, Zimbabwe.
61. Murphy P.A., Hendrich S., Landgren C., Bryant C.M. (2006). Food mycotoxins: An update. *Journal of food science*. 71 (5)
62. Negash D. (2018). A review of aflatoxin: Occurance, Prevention, and Gaps in Both Food and Feed Safety. *J Appl Microb Res*. Vol: 1. 35-43
63. Paterson R.R.M., Lima N. (2010). How will climate change affect mycotoxins in food? *Food Research International*. 43: 1902-1914
64. Paterson R.R.M., Lima N. (2017a). Thermophilic Fungi to Dominate Aflatoxigenic/Mycotoxigenic Fungi on Food under Global Warming. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 14, 199.
65. Paterson R.R.M., Venancio A., Lima N., Guillox-Benatier M., Rousseaux S. (2017b). Predominant mycotoxins, mycotoxigenic fungi and climate change related to wine. *Food research international*. 1-70
66. Peng W.X., Marchal J.L.M., Van der Poel A.F.B. (2018). Strategies to prevent and reduce mycotoxins for compound feed manufacturing. *Animal Feed Science and Technology* 237.129-153
67. Petrić J. (2016). Imunoenzimske (ELISA) metode u analitici prehrambenih proizvoda. Završni rad. Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-Biotehnološki fakultet. Zagreb
68. Pietsch C. (2020). Risk assessment for mycotoxin contamination in fish feeds in Europe. *Mycotoxin research*. 36:41-62
69. Pleadin A., Frece J., Markov K. (2019). Advances in Food and Nutrition Research, volume 89. U: *Mycotoxins in food and feed* (Ur. Toldra F.). 298-337
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
71. Pleadin J., Frece J., Vasilj V., Markov K. (2015). Fuzarijski mikotoksini u hrani i hrani za životinje. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*. 10: 6-13
72. Pleadin J., Vasilj V., Petrović D. (2018.). Mikotoksini: pojavnost, prevencija i redukcija. Sveučilište u Mostaru. Mostar
73. Reddy K.R.N., Raghavender C.R., Reddy B.N., Salleh B. (2010). Biological control of *Aspergillus flavus* growth and subsequent aflatoxin B1 production in sorghum grains. *African Journal of Biotechnology*. 9(27):4247-4250
74. Rimar H. (2017). Korištenje mikrobioloških preparata u suzbijanju aflatoksina – diplomski rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Osijek
75. Russel R., Paterson M., Lima N. (2009). How will climate change affect mycotoxins in food? *Food Research International* 43. 1902-1914
76. Samardžija M., Jeličić A., Mitak M., Pleadin J. (2017). Estrogeni učinci zearalenona u farmskih životinja i opasnosti za zdravlje ljudi i životinja. *Veterinarska stanica* 48 (2).

77. Scazzocchio C. (2019). *Aspergillus*: A Multifaceted Genus. *Encyclopedia of Microbiology*. 401-421
78. Solomon S., Qin D., Manning M., Alley R.B., Berntsen T., Bindoff N.L., Chen Z., Chidthaisong A., Gregory J.M., Hegerl G.C., Heimann M., Hewitson B., Hoskins B.J., Joos F., Jouzel, J., Kattsov V., Lohmann U., Matsuno T., Molina M., Nicholls N., Overpeck J., Raga G., Ramaswamy V., Ren, J., Rusticucci, M., Somerville R., Stocker T.F., Whetton P., Wood R.A., Wratt D. (2007). Technical summary In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press. Cambridge and New York
79. Šegvić M., Pepelnjak S. (2004). Aerogena učestalost spora plijesni na području grada Zagreba. *Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu*. 55:159-165
80. Thanushree M.P., Sailendri D., Yoha K.S., Moses J.A. (2019). Mycotoxin contamination In food: and exposition on spices. *Trends in Food Science & Technology* 93. 69-80
81. Valpotić H., Šerman V. (2006). Utjecaj mikotoksina na zdravlje i proizvodnost svinja. *Krmiva* 48: 33-42
82. Van Der Fels-Klerx H.J., Liu C., Battilani P. (2016). Modelling climate change impacts on mycotoxin contamination. *World Mycotoxin Journal*. 9 (5): 717-726
83. Vary Z., Mullins E., Mcelwain J.C., Doohan F. (2015). The severity of wheat diseases increases when plants and pathogens are acclimatised to elevated carbon dioxide. *Glob. Change Biol.* 21, 2661-2669
84. Vasić – Rački Đ., Galić K., Delaš F., Klapac T., Kipčić D., Katalenić M., Dimitrov N., Šarkanj B. (2010). *Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani*. Hrvatska agencija za hranu (HAH). Osijek.
85. Vaughan M.M., Huffaker A., Schmelz E.A., Dafoe N.J., Christensen S., Sims J. (2014). Effects of elevated CO₂ on maize defence against mycotoxigenic *Fusarium verticillioides*. *Plant Cell. Environ.* 37, 2691-2706
86. Vrdoljak J. (2017). Utjecaj mikotoksina na fermentacijsku aktivnost bakterija mliječne kiseline. Završni rad. Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-Biotehnološki fakultet. Zagreb.
87. Vukšić L. (2020). *Biološka detoksifikacija i mehanizmi uklanjanja okratoksina A*. Završni rad. Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-Biotehnološki fakultet. Zagreb.
88. Weaver A.C., Adams N., Yiannikouris A. (2020). Invited Review: Use of technology to assess and monitor multimycotoxin and emerging mycotoxin challenges in feedstuffs. *Applied Animal Science*. 36(1): 19-25
89. Wheeler K.A., Hurdman B.F., Pitt J.I. (1991). Influence of pH on the growth of some toxigenic species of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*. *Int. J. Food Microbiology*. 12: 141-149
90. World Health Organization (2018). *Aflatoxins*. *Food Safety Digest*. [online] https://www.who.int/foodsafety/FSDigest_Aflatoxins_EN.pdf - pristup 05.06.2020.

91. Wu F., Mitchell N.J. (2016). How climate change and regulations can affect the economics of mycotoxins. *World Mycotoxin Journal*. 9 (5): 653-663
92. Yadav A.N., Verma P., Kumar V., Sangwan P., Mishra S., Panijar N., Gupta V.K., Saxena A.K. (2018). New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering. U: Biodiversity of the Genus *Penicillium* in Different Habitats. 3-18
93. Zinedine A., Soriano J.M., Molto J.C., Manes J. (2007). Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin. *Food and Chemical Toxicology* 45. 1-18

Životopis

Tena Kuveždić rođena je 17.8.1995. u Zagrebu u kojem sam odrasla i trenutno živim. Pohađala je osnovnu školu Pantovčak od 2002., a završila ju je 2010. s odličnim uspjehom. Tijekom osnovnoškolskog obrazovanja pohađala je tečajeve engleskog i španjolskog jezika u školi stranih jezika. Po završetku osnovne škole upisala je XVIII. Jezičnu gimnaziju u Zagrebu, a zbog odličnog snalaženja u biologiji upisala sam Agronomski fakultet u Zagrebu 2015. godine usmjerenja Agroekologija, a isti smjer nastavila je i na diplomskom studiju. Područja interesa su joj biotehnologija i kvaliteta hrane, mikrobiologija i obnovljivi izvori energije u poljoprivredi.

