Estrogeno djelovanje zearalenona u farmskih životinja

Jeličić, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2017

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:284893

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Veterinary Medicine - Repository of PHD, master's thesis

zir.nsk.hr

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

VETERINARSKI FAKULTET

SVEUČILIŠTA U ZAGREBU

ANA JELIČIĆ

ESTROGENO DJELOVANJE ZEARALENONA U FARMSKIH ŽIVOTINJA

DIPLOMSKI RAD

ZAGREB, 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULTET

KLINIKA ZA PORODNIŠTVO I REPRODUKCIJU

Predstojnik: Izv. prof. sc. dr. Juraj Grizelj

Mentori: Prof. dr. sc. Marko Samardžija

Izv. prof. dr. sc. Jelka Pleadin, dipl. ing

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Doc. dr. sc. Ivan Folnožić
2. Prof. dr. sc. Marko Samardžija
3. Izv. prof. dr. sc. Jelka Pleadin
4. Doc. dr. sc. Nino Maćešić (zamjena)

ZAHVALA

Veliku zahvalnost, u prvom redu, dugujem svojim mentorima prof. dr. sc. Marku Samardžiji i izv. prof. dr. sc. Jelki Pleadin koji su mi omogućili svu potrebnu literaturu i pomogli svojim savjetima pri izradi ovog diplomskog rada, i što su imali strpljenja i vremena za moje upite.

Zahvaljujem se svim djelatnicima Klinike za porodništvo i reprodukciju, a posebno prof. dr. sc. Goranu Bačiću, izv. prof. dr. sc. Tugomiru Karadjoli te doc. dr. sc. Ninu Maćešiću koji su mi tijekom volontiranja pružili veliku količinu potrebnih znanja i vještina, u teoretskoj i praktičnoj dimenziji.

Također, zahvaljujem se svim svojim prijateljima i prijateljicama, koji su uvijek bili uz mene i bez kojih cijeli ovaj tijek mojeg studiranja ne bi prošao tako lako i zabavno.

Posebnu zahvalnost iskazujem cijeloj svojoj obitelji koja je uvijek bila tu uz mene, bez obzira da li se radilo o teškim ili sretnim trenucima i bez koje sve ovo što sam dosad postigla ne bi bilo moguće.

I na kraju, najveću zaslugu za ono što sam postigla pripisujem svojim roditeljima, koji su me uvijek podržavali i upućivali na pravi put.

SADRŽAJ

1. UVOD 1

2. MIKOTOKSINI 2

2.1. Općenito o mikotoksinima 2

2.2. Podjela mikotoksina 3

2.2.1. Fusarium mikotoksini 5

2.3. Kontaminacija žitarica i stočne hrane *Fusarium* toksinima 5

2.4. Dekontaminacija i prevencija fuzarijskih mikotoksina 7

2.5. ZEARALENON (ZEN) 9

2.5.1. Unošenje hranidbom farmskih životinja 11

2.5.2. Zearalenon u žitaricama i krmnim smjesma u Republici Hrvatskoj 11

2.5.3. Metabolizam ZEN-a 14

2.5.4. Estrogeni učinak u farmskih životinja 15

2.5.5. Zakonodavstvom dozvoljene/preporučene količine u hrani i hrani za životinje 19

2.5.6. Stopa prijenosa („carry-over" efekt) u hranu životinjskog podrijetla 20

2.5.7. Utjecaj na zdravlje čovjeka 22

3. ZAKLJUČAK 23

4. SAŽETAK 24

5. SUMMARY 25

6. POPIS LITERATURE 26

7. ŽIVOTOPIS 36

1. UVOD

Žitarice i proizvodi od žitarica su u hranidbi životinja, kao i u ljudskoj prehrani, među najzastupljenijim komponentama, a ujedno i vrlo pogodna sirovina za razvoj plijesni koje tvore mikotoksine. FAO (*The Food and Agriculture Organization*) navodi da je oko 25% svjetske proizvodnje žitarica kontaminirano mikotoksinima koji mogu značajno utjecati na zdravlje životinja, odnosno ljudi (PERAICA i DOMIJAN, 2001., SURA i sur., 2008.).

Mikotoksini imaju različite akutne ili kronične učinke što ponajprije ovisno o vrsti i rezistenciji pojedine životinje, a posebno su osjetljive monogastrične životinje (svinje). Preživači su u pravilu otporniji na negativne učinke mikotoksina, budući da mikroorganizmi u buragu imaju sposobnost njihove razgradnje do manje toksičnih spojeva (HUSSEIN i BRASEL, 2001.). Pri tome su protozoe bitnije u biodegradaciji od bakterija. Ipak, pri dugotrajnoj konzumaciji hrane kontaminirane mikotoksinima i u preživača mogući su poremećaji u proizvodnji, reprodukciji i rastu. Posebno značajan problem predstavlja mogućnost prijenosa mikotoksina i njihovih metabolita na ljude, putem jestivih životinjskih proizvoda (MAŠEK i ŠERMAN, 2006.).

U krmivima i krmnim smjesama mogu se naći i brojne tvari koje mogu imati estrogeni učinak te kao takve utjecati na razinu spolnih hormona i pojavu estrusa. Zearalenon je mikotoksin, metabolit plijesni iz roda *Fusarium* koji je po svojoj kemijskoj strukturi sličan estrogenim hormonima. Njegovo estrogeno djelovanje dovodi do poremećaja urogenitalnog sustava, dok jača akutna ili kronična otrovanja ostavljaju za sobom trajne posljedice na organima reproduktivnog sustava u vidu degenerativnih promjena testisa, atrofije jajnika, steriliteta te pobačaja. Stoga je cilj ovog diplomskog rada opisati estrogeno djelovanje zearalenona u farmskih životinja.

2. MIKOTOKSINI

2.1. Općenito o mikotoksinima

Riječ mikotoksin dolazi od grčke riječi „myces“, odnosno gljiva i latinske riječi „toxicum“ što znači otrov (TURNER i sur., 2009.). Nastaju kao sekundarni metaboliti plijesni, a ljudi i životinje ih unose putem hrane, udisanjem ili preko kože (PERAICA i sur., 1999.).

Plijesni otpuštaju enzime u hranjivu masu tijekom hranjenja, a koji potom omogućuju razgradnju složenih sastojka u jednostavne, pogodne za probavu. Probavljeni nutrijenti koriste se za stvaranje primarnih i sekundarnih metabolita. Primarni metaboliti sadrže celulozu i druge sastojke koji se koriste za rast i reprodukciju plijesni, a sekundarni, mikotoksini, koriste se za obranu od drugih mikroorganizama uključujući i druge plijesni (KATALENIĆ, 2004.).

Kontaminacija poljoprivrednih kultura mikotoksinima može se pojaviti u različitim fazama: prije žetve, tijekom berbe i sušenja te tijekom skladištenja. Gljivični rast promiču neprikladna poljoprivredna i žetvena praksa, nepravilno sušenje, rukovanje, pakiranje, skladištenje ili transport žitarica, te pritom povećavaju rizik od proizvodnje mikotoksina. Ukoliko se hrana, nakon što je procesirana, skladišti u uvjetima koji sprječavaju gljivičnu kontaminaciju i bioproizvodnju mikotoksina, uglavnom neće doći do naknadne produkcije mikotoksina (MARIN i sur., 2013.).

Najčešći način izloženosti mikotoksinima je putem oralnog unosa kontaminirane hrane ili hrane za životinje (DVORACKOVA, 1976.). Metabolizam oralno unesenih mikotoksina može rezultirati kumulacijom mikotoksina u različitim organima ili tkivima, koji u hranidbeni lanac mogu ući i preko preko mesa, mlijeka ili jaja (MARIN i sur., 2013.), tzv. „carry-over“ efektom, dok i ostale namirnice kao što su orasi, začini, voće i njihovi proizvodi, isto mogu biti kontaminirane mikotoksinima. U prijenosu mikotoksina ipak su najbitnije žitarice, iz razloga što ih konzumiraju i ljudi i životinje (PITTET, 1998.).

2.2. Podjela mikotoksina

Poznato je nekoliko stotina mikotoksina koje produciraju plijesni, a zbog njihovog različitog podrijetla, kemijske strukture, biokemijskog puta sinteze te bioloških učinaka, teško ih je jedinstveno sistematizirati. Stoga se sistematizacija najčešće provodi prema vrsti plijesni, kemijskoj strukturi te načinu djelovanja (BENNETT i KLICH, 2003., MAŠEK i ŠERMAN, 2006.). Iako postoji više od 300 izoliranih mikotoksina (BETINA, 1984.), istraživanja se uglavnom odnose na one koji narušavaju zdravlje ljudi, domaćih životinja te kućnih ljubimaca, odnosno aflatoksin B1 (AFB1), okaratoksin A (OTA), T-2 toksin, deoksinivalenol (DON), diacetoksiscirpenol (DAS), zearalenon (ZEN), fumonizin (FUM), patulin (PAT), tremorgene toksine, te ergot alkaloide (MAŠEK i ŠERMAN, 2006.).

Treba naglasiti da više različitih vrsta plijesni može proizvesti isti mikotoksin, kao i da jedna vrsta plijesni može proizvoditi više različitih mikotoksina (MAŠEK i ŠERMAN, 2006.). U tablici 1 prikazane su glavne vrste plijesni s pripadajućim mikotoksinima (D'MELLO i MacDONALD,1997.).

Tablica 1. Glavne toksinogene vrste plijesni i njihovi glavni mikotoksini (D'MELLO i MacDONALD, 1997.)

Vrsta plijesni	**Mikotoksin**
Aspergillus flavus, Aspergillus parasiticus	Aflatoksini
Aspergillus flavus	Ciklopiazonična kiselina
Aspergillus ochraceus, Penicillium viridicatum, Penicillium cyclopium	Okaratoksin:A
Penicillium expansum	Patulin
Fusarium culmorum, Fusarium graminearum, Fusarium sporotrichioides	Deoksinivalenol (DON)
Fusarium sporotrichioides, Fusarium poae	T-2
Fusarium sporotrichioides, Fusarium graminearum, Fusarium poae	Diacetoksiscirpenol (DAS)
Fusarium culmorum, Fusarium graminearum, Fusarium sporotrichioides	Zearalenon
Fusarium moniliforme	Fumonizini
Acremonium coenophialum	Ergot alkaloidi
Acremonium lolii	Lolitrem B
Phomopsis leptostromiformis	Fomopsini
Pithomyces chartarum	Sporidesmini

2.2.1. *Fusarium* mikotoksini

Mikotoksini *Fusarium* vrsta su među najčešćima koji se javljaju u žitaricama koje rastu u područjima umjerene klime. *Fusarium* vrste sintetiziraju široki spektar mikotoksina raznolike strukture i kemijskih svojstava (FLANNIGAN, 1991.). Najvažniji su oni koji utječu na zdravlje i produktivnost životinja, a to su trihoteceni, zearalenon (ZEN), moniliformin i fumonizini (D'MELLO i sur., 1997.).

Trihoteceni su podijeljeni u četiri osnovne skupine, a najznačajniji predstavnici pripadaju skupinama A i B. U skupinu A spadaju T-2 toksin, HT-2 toksin, neosolaniol (NEO) i diacetoksiscirpenol (DAS), dok u skupinu B trihotecena spadaju deoksinivalenol (DON) i njegovi derivati: 3-acetil-deoksinivalenol (3-ADON) i 15-acetil-deoksinivalenol (15-ADON), nivalenol (NIV) i fuzarenon-X.

Istraživanja su pokazala da fuzarijski mikotoksini uzrokuju bolesti mikotoksikoze te da imaju genotoksično, nefrotoksično, citotoksično, estrogeno i teratogeno djelovanje. Kod životinja, učinak ovisi o vrsti, a posebno su osjetljive monogastrične životinje, primjerice svinje. Toksični učinci mikotoksina kao posljedicu imaju narušavanje zdravlja ljudi i životinja, povećane troškove zdravstvene skrbi, smanjenje prinosa u stoke, zbrinjavanje onečišćene hrane i hrane za životinje te ulaganje u brojna znanstvena istraživanja u cilju smanjenja ozbiljnosti problema vezanih uz onečišćenje ovim tvarima (HUSSEIN i BRASEL, 2001.).

2.3. Kontaminacija žitarica i stočne hrane *Fusarium* toksinima

Kontaminacija mikotoksinima javlja se još u polju, tijekom berbe i transporta te skladištenja (COFFEY i sur., 2009.). Problem je naročito izražen tijekom kišovitih godina kada drastično poraste postotak kontaminacije plijesnima te posljedična tvorba mikotoksina (PEPELJNJAK i sur., 2008., MITAK i sur., 2011.). Razina kontaminacije primarno ovisi o prirodnim uvjetima, i to o sadržaju vlage, temperaturi, relativnoj vlažnosti zraka i pH vrijednosti, koji mogu pogodovati rastu plijesni i produkciji mikotoksina (JAY, 1992., JANSSEN i sur., 1997.).

Višegodišnja istraživanja provedena u Hrvatskoj ukazuju na učestala onečišćenja hrane (žitarica) i hrane za životinje (krmiva i krmnih smjesa) fuzarijskim mikotoksinima (PEPELJNJAK i ŠEGVIĆ, 2004., DOMIJAN i sur., 2005., PERŠI i sur.,

2011., VULIĆ i sur., 2011., PLEADIN i sur., 2012.a, PLEADIN i sur., 2014.a) te upućuju na nužnost primjene dekontaminacijskih metoda ili sustavne kontrole i prevencije onečišćenja, kako bi se smanjili ekonomski gubitci u prehrambenoj i stočarskoj industriji te spriječili negativni učinci na zdravlje ljudi i životinja.

Tablica 2. Vrste biljaka koje su kontaminirane s toksinima Fusarium vrste (Directorate-Generaral Health and Consumer Protection, 2003.).

***Fusarium* toksini**	**Pozitivni nalaz u pojedinim biljnim vrstama (%)**
Skupina B trihotecena	
Deoksinivalenol	kukuruz (89%), pšenica (61%),
Nivalenol	kukuruz (35%), zob (21%), pšenica (14%)
3-acetildeoksinivalenol	kukuruz (27%), pšenica (8%)
Skupina A trihotecena	
T-2 toksin	kukuruz (28%), pšenica (21%), zob (21%)
HT-2 toksin	raž (41%), kukuruz (24%), raž (17%)
Zearalenon	kukuruz (79%), mljeveni kukuruz (51%), proizvodi na bazi kukuruza (53%), pšenica (30%), mljevena pšenica (24%), pšenični proizvodi (11%), dječja hrana (23%)
Fumonizini	
Fumonizin B1	kukuruz (66%), kukuruzno brašno (79%), kukuruzni proizvodi (31%), kukuruzne pahuljice (46%), pšenica (79%)
Fumonizin B2	kukuruz (51%)

2.4. Dekontaminacija i prevencija fuzarijskih mikotoksina

U lancu proizvodnje hrane najbolja kontrola mikotoksina odnosi se na prevenciju njihova nastanka još na polju. Žitarice su vrlo pogodan supstrat za rast plijesni pa tako i za onečišćenje njihovim sekundarnim produktima odnosno mikotoksinima. U većini slučajeva se radi o kukuruzu, a potom žitaricama malog zrna (pšenica, sijerak, zob, ječam, riža) i uljaricama (kikiriki, sjeme pamuka) (DURAKOVIĆ i DURAKOVIĆ, 2003.). Uglavnom se onečišćenje ne može potpuno spriječiti, no postoje različite preventivne mjere pomoću kojih se ono može svesti na najmanju moguću razinu (PLEADIN i sur., 2014.c).

Rast plijesni je moguće spriječiti na različite načine i prije i nakon žetve. Neke od preventivnih mjera su: uporaba hibrida žitarice otpornijih na plijesni; pravilan plodored; prikladno vrijeme sjetve i vrijeme berbe, budući da se kasne sorte žitarica lakše inficiraju plijesnima tijekom vlažne jeseni; pravovremena primjena fungicida; odabir prikladnog plodoreda; primjena separatora pomoću kojih se uklanjaju oštećena i pljesniva zrna; prikladna gnojidba, budući da gnojidba s previše dušika povećava osjetljivost na plijesni potrebno je provesti analizu tla prije prihrane biljaka; adekvatno skladištenje uz optimalnu temperaturu i vlažnost žitarica (BOUTRIF, 1995., BINDER, 2007.).

U slučaju onečišćenja sirovina mikotoksinima, ovisno o mikotoksinu ili grupi mikotoksina, potrebna je primjena ciljanih mjera redukcije odnosno dekontaminacije, koje bi trebale učinkovito inaktivirati ili u potpunosti ukloniti mikotoksin, a da pritom ne naruše nutritivna i tehnološka svojstva proizvoda te ne stvaraju reaktivne toksične produkte (LÓPEZ-GARCÍA i PARK, 1998.).

Općenito se metode redukcije mogu podijeliti na kemijske, biološke i fizikalne (KABAK i sur., 2006.). Najznačajnija je primjena adsorptivnih tvari, a pojedini adsorbensi su se pokazali veoma učinkovitim u vezivanju i redukciji pojedinih mikotoksina (RAMOS i sur., 1996.). Iako manje učinkovite, u dekontaminaciji se također koriste i alternativne metode koje podrazumijevaju mikrobnu ili enzimatsku detoksifikaciju (BOUTRIF, 1995., MILLER, 1995., BINDER, 2007.).

Od fizikalnih metoda značajna je primjena visokih temperatura, UV, x i γ-zraka te mikrovalova.

Kemijske metode redukcije uključuju primjenu različitih kemijskih sredstava, poput kiselina, baza, reducirajućih sredstava, kloridnih sredstava, oksidanata i formaldehida, no njihova primjena je često neučinkovita i skupa pa se stoga rijetko primjenjuju (O'NEILL i sur., 1993., VISCONTI i sur., 1996.).

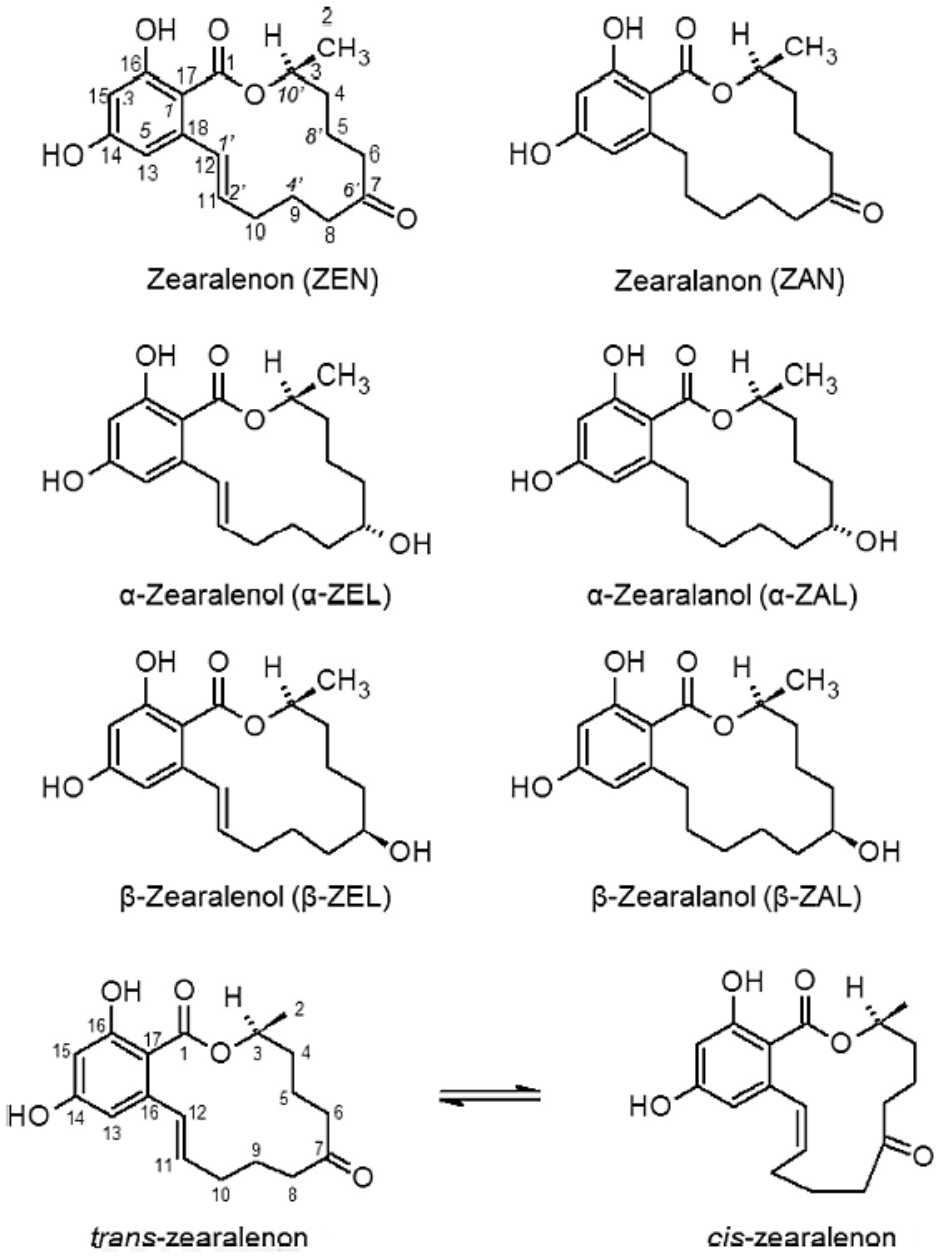
Biološka metoda podrazumijeva korištenje određenih sojeva bakterija mliječne kiseline, propionskih bakterija i bifidobakterija sa strukturom stanične stijenke koja može vezati mikotoksine te na taj način ograničiti bioraspoloživost u tijelu životinja. Pojedini kvasci i plijesni također imaju sposobnost razgradnje mikotoksina (PLEADIN i sur., 2015.c).

2.5. ZEARALENON

Nekada zvan F-2 toksin, zearalenon je mikotoksin, kemijskog naziva 3,4,5,6,9,10-heksahidro-14,16-dihidroksi-3-metil-1_- H-2 benzoksiciklotetradecin-1,7 (8H)–dion. Spada u skupinu makrocikličnih laktona, a izoliran je 1962. godine iz kulture plijesni *Giberella zeae* (spolni stadij plijesni *Fusarium graminearum*) (BENNET i KLICH, 2003.). Metabolit je različitih vrsta iz roda *Fusarium* i to *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. graminearum* i *F. moniliforme* (CHELKOWSKI, 1998.). Zearalenon pripada skupini fitoestrogena (SREBOČAN, 1993.). Fitoestrogeni su komponente prirodno prisutne u biljkama čija je zajednička karakteristika kemijska sličnost s prirodnim i sintetskim hormonima estrogenima. Najintenzivniji rast plijesni roda *Fusaruim* odvija se pri temperaturi 18-24 °C te relativnoj vlažnosti zraka većoj od 70%. Za aktivaciju, u sintezu toksina uključenih enzima, potrebna je niža početna temperatura (ABRAMSON, 1998., ŠPERANDA i sur., 2005., ŠUMIĆ, 2009.). Optimalna pH vrijednost medija za rast plijesni te sintezu zearalenona je 4 do 6,5. Temperaturne oscilacije između 15 i 30 °C pogoduju rastu nekih vrsta *Fusarium*, npr. *F. Graminearum* te u konačnici rezultiraju povećanom sintezom zearalenona (DOMAĆINOVIĆ i sur., 2012.).

Produkt redukcije zearalenona je zearalenol, koji ima dva stereoizomera; alfa i beta, od kojih je α-zearalenol je tri do četiri puta toksičniji od zearalenona, dok je aktivnost β izomera približno jednaka zearalenonu (ZINEDINE i sur., 2007.). URRY i sur. (1966.) odredili su kemijsku strukturu zearalenona i njegovih najznačajnijih prikazanu na slici 1.

U prirodi ovaj mikotoksin nalazimo u zrnu kukuruza s visokim sadržajem vode, onečišćenim ponajprije s *Fusarium roseum* i to u kasnu jesen i zimu. Zearalenon je termostabilan, topljiv u vodenim alkalijama, eteru i alkoholu, no ne u vodi, ugljik-disulfidu i ugljik-tetrakloridu (HAGLER i sur., 1979., OŽEGOVIĆ i PEPELJNJAK, 1995.). Brzo se apsorbira nakon oralnog uzimanja, a izlučuje se putem žuči (ZINEDINE i sur., 2007.). Stabilan je tijekom skladištenja, mljevenja i prerade, a ni pri visokim temperaturama se ne razgrađuje (HAGLER i sur., 1979., BETINA, 1989., OŽEGOVIĆ i PEPELJNJAK, 1995., ZOLLNER i sur., 2002., ALEXANDER i sur., 2004.).



Slika 1. Kemijska struktura zearalenona i nekih njegovih metabolita (prilagođeno iz DÄNICKE i WINKLER, 2015.)

2.5.1. Unošenje hranidbom farmskih životinja

Zearalenon i produkti njegova metabolizma mogu se naći i u plijesnima onečišćenoj silaži, stočnoj hrani, hrani životinjskog podrijetla (mesu, mlijeku i sirevima), kikirikiju, te proizvodima fermentacije kukuruza kao što je pivo (UTERMARK i KARLOVSKY, 2007.).

Prisutnost zearalenona, kao prirodnog kontaminanta, najvažnija je u zrnju kukuruza, pšenice, zobi, ječma, a potom u riži, raži, soji, sezamu, brokuli, hmelju i kupusu. Na polju dolazi do kontaminacije, no rast plijesni i tvorba toksina nastavlja se i tijekom skladištenja, naročito ako je ono neprikladno uskladišteno (ZINEDINE i sur., 2007.).

U hranidbi svinja i peradi koriste se već prethodno pripremljene krmne smjese, koje se po sastavu razlikuju ovisno o fazi proizvodnje. Uglavnom se sastoje od žitarica, koje čine najveći dio smjese, potom proteina, minerala i ulja, a sam sastav ovisi o zahtjevima uzgajivača. Hranidba preživača sastoji se od hranidbe koncentratom i voluminoznim krmivom u različitim omjerima, što primarno ovisi o tipu proizvodnje.

U konačnici će izloženost životinja zearalenonu ovisiti o vrsti i količini žitarica koje se koriste u sastavljanju obroka, vrsti i dobi životinje te tipu i fazi proizvodnje u kojoj se životinje nalaze (EFSA, 2004.).

2.5.2. Zearalenon u žitaricama i krmnim smjesma u Republici Hrvatskoj

Tablica prikazuje 30-godišnji pregled istraživanja kontaminacije žitarica i krmiva u Hrvatskoj, gdje su u vlažnim godinama, odnosno za vrijeme produljenih zima i temperaturnih oscilacija utvrđene znatno veće koncentracije zearalenona.

Tablica 3. Pregled nalaza zearalenona u krmivu i žitaricama na području Republike Hrvatske

Godina	Uzorak (N=broj uzoraka)	Učestalost / raspon koncentracija (µg)	Literatura
1975./76.	kukuruz (191)	2,6% / 43-10000 (µg)	BALZER i sur., 1977.
1976./77.	žitarice (272)	6,0% / 51-4200 (µg)	PEPELJNJAK i ČUTURIĆ, 1978.
1977.	kukuruz (267)	16% / 100-4000 (µg)	PEPELJNJAK i sur., 1979.
1978./79.	žitarice (116)	46,5% / 10-275800 (µg)	PEPELJNJAK i BALZER, 1982.
1984./85.	žitarice (46)	15,2% / 560-3000 (µg)	PEPELJNJAK i CVETNIĆ, 1986.
1984./85.	krmivo (32)	25% / 100-1200 (µg)	PEPELJNJAK i CVETNIĆ, 1986.
1985.	krmivo (369)	29% / 100-6880 (µg)	NEMANIČ i sur., 1986.
1988.-1997.	krmivo (156) kukuruz (378)	19,4 i 10% / srednje konc. 150-1200 (µg)	PEPELJNJAK i sur., 1999.
1990.-1999.	krmivo (459)	21,19% / 50-1200 (µg)	MITAK i sur., 2001.
1991.	žitarice (111)	43,2% / 1-19900 (µg)	Pepeljnjak i sur., 1992.
1992.-1995.	kukuruz, žitarice (234)	10% / 23-10700 (µg)	PEPELJNJAK i sur., 1999.
1998.-2001.	kukuruz (136)	10% / 200-2700 (µg)	PEPELJNJAK i sur., 2002.
2002./03.	kukuruz (49)	83% / 0,43-39 ko-kontaminacija 37%	DOMIJAN i sur., 2005.
2004./05.	kukuruz	26% / 6030-29430 (µg)	ŠEGVIĆ KLARIĆ i sur., 2007.
2006./07.	žitarice krmivo	91% / 27,7-1182 (µg)	PEPELJNJAK i sur., 2008.

2010.	kukuruz (40)	2.6% / 2-5100 (µg)	PLEADIN i sur., 2012.b
2011.	krmivo za tov svinja (30)	8,93-866 (µg)	PLEADIN i sur., 2012.b
2011.	kukuruz (63) pšenica (51) ječam (34) zob (34)	10-611 (µg) 7-107 (µg) 5-68 (µg) 4-43 (µg)	PLEADIN i sur., 2013.
2014.	kukuruz (151) pšenica (17) ječam (13) silaža (14) tovna hrana (38)	2,21-5522 (µg) 4,72-3366 (µg) 2,30-8.07 (µg) 3,28-753 (µg) 2,17-1949 (µg)	PLEADIN i sur., 2015.b

2.5.3. Metabolizam zearalenona

Zearalenon (ZEN), oralno unesen kontaminiranom hranom, kroz strukturalne promjene može proći prije apsorpcije (ingestivna razina), na apsorpcijskoj razini (mukoze, sluznice) te nakon apsorpcije (metabolička razina). Na razini apsorpcije i nakon apsorpcije odvija se redukcija zearalenona, dok daljnje izmjene rezultiraju oksidativnim i konjugiranim oblicima njegovih metabolita (DÄNICKE i WINKLER, 2015.).

Dva su glavna biotransformacijska puta zearalenona u životinja, a to su hidroksilacija te konjugacija zearalenona i njegovih reduciranih metabolita s glukoronskom kiselinom. Hidroksilacija rezultira formiranjem α-zearalenola (α-ZEN-a) i β-zearalenola (β-ZEN-a), a katalizirana je 3α- i 3β-hidroksisteroid dehidrogenazom, dok konjugaciju zearalenona i njegovih reduciranih metabolita s glukuronskom kiselinom katalizira uridindifosfat glukuronil transferaza (OLSEN i sur., 1981.).

Nakon oralnog unosa, zearalenon se brzo apsorbira, a u jetri prevodi u u dva različita izomera - ZEL (α i β) i ZAN (zearalanon) (ALLDRICK i HAJŠELOVÁ, 2004.). U jetri se koncentracija zearalenona smanjuje. Mjesto biotransformacije ovog spoja u organizmu razlikuje se ovisno o životinjskoj vrsti (HAGLER i sur., 1979., OŽEGOVIĆ i PEPELJNJAK, 1995.). Iz organizma životinje se ipak većina (>90%) mikotoksina izluči (ALLDRICK i HAJŠELOVÁ, 2004.), a istraživanje je pokazalo da svinje izlučuju metabolite zearalenona u većim koncentracijama u odnosu na govedo i to najviše putem urina (MIROCHA i sur., 1981.).

2.5.4. Estrogeni učinak u farmskih životinja

Sličnost konfiguracije i polarnosti zearalenona s estradiolom može se objasniti afinitet zearalenona prema mjestima vezivanja estrogenskih receptora (LINDSAY 1985.).

Zearalenon i njegovi metaboliti poznati su po estrogenim i anaboličkim svojstvima, jer uzrokuju atrofiju jajnika, sjemenika, prostate, sjemenskih vezikula te inhibiciju prednjeg režnja hipofize i hipotalamusa (DURAKOVIĆ i DURAKOVIĆ, 2003.). Učinak ovog mikotoksina dovodi do morfoloških i funkcionalnih poremećaja reproduktivnih organa i oštećenja spolnih stanica domaćih životinja, što rezultira hiperestogenizmom u goveda, svinja i peradi (svinje najosjetljivije) (RICHARDSON i sur., 1995., MITTERBAUER i sur., 2003.).

Zearalenon i njegovi derivati vežu se za estrogene receptore u citoplazmi stanica spolnih organa, pri čemu nastaje fiziološki odgovor stanica sličan djelovanju prirodnog estrogena 17-β-estradiola čije se vezanje za receptore citosola uterusa inhibira (ALEXANDER i sur., 2004., MITTERBAUER i sur., 2003.). Opisano je više simptoma izloženosti zearalenonu u domaćih životinja, među kojima su produljenje trajanja estrusa, smanjenje libida, neplodnost životinja, mumifikacija fetusa, pobačaji, mrtvorođenosti i smanjen okot (VISCONTI i sur., 1998.). Na pokusnim životinjama je dokazano da kroz placentu prelazi u fetus (EL-MAKAWY i sur., 2001.).

Osim blagog estrogenog učinka, zearalenon inhibira lučenje folikulostimulirajućeg hormona (FSH), potiskuje razvoj folikula ovarija, inhibira proces ovulacije te ima luteotropan učinak što uzrokuje retenciju žutog tijela, pseudograviditet i anestriju (OSWEILER, 1996., GAFFOOR i TRAIL, 2006.). Smatra se i da u životinja djeluje kao tumor promotor te je prema IARC ovaj mikotoksin svrstan u skupinu 3 (IARC, 1999

Klinički znaci se razlikuju ovisno o vrsti, starosti i reproduktivnom statusu životinje (PERAICA i DOMIJAN, 2001., MITTERBAUER i sur., 2003.). U tablici 4. prikazan je utjecaj zearalenona na reprodukciju životinja.

2.5.4.1. Svinje

Najosjetljivija vrsta na djelovanje zearalenona su svinje kod kojih se mikotoksikoze najčešće i javljaju (NAGLIĆ i sur., 2005.). Kod težih oblika otrovanja dolazi do prolapsusa rodnice i rektuma, paralize stražnjih nogu i smrti.

Zearalenon se u svinja predominatno reducira u α-zearalenon, stoga su biokonverzija u α-zearalenon i enterohepatična recirkulacija zearalenona mehanizmi koji čine svinju vrlo osjetljivom na hranu kontaminiranu ovim mikotoksinom (DANICKE i sur., 2005., MALEKINEJAD i sur., 2006., LUONGO i sur., 2008., TSAKMAKIDIS i sur., 2008.).

2.5.4.1.1. Mlade nazimice

Pošto su najosjetljivije, već male doze, 1,5 do 2 mg/kg (ppm), uzrokuju hiperemiju i otečenje stidnice (slika 2), atrofiju jajnika i povećanje maternice, a ponekad čak i prolapsus rodnice (EDWARDS i sur., 1987.a).

2.5.4.1.2. Krmače

U krmača su potrebne veće doze koje uzrokuju slične kliničke znakove. U njih je zabilježena nimfomanija, pseudograviditet, atrofija jajnika i degenerativne promjene na endometriju. U krmača pa čak i u nazimica, zearalenon uzrokuje degenerativne promjene i smrt jajnih stanica u Graafovom folikulu pa iako dolazi do estrusa nema ovulacije. U dozi od 200 µg/kg tjelesne težine, zearalenon smanjuje preživljavanje embrija i porođajnu težinu prasadi (DÄNICKE i sur., 2005.).

2.5.4.1.3. Nerasti

U nerasta uzrokuje smanjenje koncentracije testosterona, težine testisa i spermatogenezu pa nerasti pokazuju karakteristike feminizacije (atrofija testisa i povećanje mliječnih žlijezda) i smanjeni libido (MIRAGLIA i sur., 1998., PEPELJNJAK i sur., 2008.).

2.5.4.2. Goveda

U goveda zearalenon, uzet u visokim dozama, može dovesti do neplodnosti i hiperstrogenizma (KANORA, 2009.).

2.5.4.3. Ovce i koze

U ovaca i koza vrlo visoke doze zearalenona dovode do smanjenja postotka ovulacije i plodnosti. (KANORA, 2009.).



Slika 2. Nazimica sa zacrvenjenom i otečenom stidnicom (MIHALJEVIĆ i sur., 2015.)

Tablica 4. Utjecaj zearalenona na reprodukciju farmskih životinja (MIHALJEVIĆ i sur., 2015.).

Svinje	**Doza zearalenona u hrani (mg/kg)**	**Klinički znakovi**	**Referenca**
Prasad, mlade nazimice	1-5	Otečenje stidnice, neke pokazuju znakove estrusa	(EDWARDS i sur., 1987.a)
Nazimice	5-10	Produženi interval između ciklusa	(EDWARDS i sur., 1987.b, ZWIERZCHOWSKI i sur., 2006.)
Gravidne krmače	25	Mali broj živooprasene prasadi, pseudograviditet	(EDWARDS i sur., 1987.b, GUTZWILLER i sur., 2009., KANORA, 2009.)
Krmače u laktaciji	> 50	Promijenjen estrusni ciklus, atrofija jajnika	(EDWARDS i sur., 1987.a)
Nerastovi	5-10	Smanjena pokretljivost spermija	(TSAKMAKIDIS i sur., 2008., GUTZWILLER i sur., 2009.)
	> 20	Smanjeni libido i veličina testisa	(GUTZWILLER i sur., 2009.).
Goveda			
Junice	5	Edem vimena, vaginitis, smanjena koncepcija	(KANORA, 2009., ZINEDINE i sur., 2007.)
Krave	10	Smanjena koncepcija, pobačaj	(ZINEDINE i sur., 2007., KANORA, 2009.)
	20	Pobačaj	(ZINEDINE i sur., 2007., KANORA, 2009.)

2.5.5. Zakonodavstvom dopuštene/preporučene količine zearalenona u hrani i hrani za životinje

U Tablici 5 prikazane su najveće preporučene količine zearalenona u žitaricama koje se koriste kao hrana za životinje (prema Commission Recommendation 2006/576/EC) te najveće dopuštene količine u neprerađenim žitaricama koje se koriste kao hrana (prema Uredbi Komisije (EZ) o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani 1881/2006).

Najveća preporučena količina zearalenona u gotovim krmnim smjesama namijenjenima za ishranu mliječnih krava i teladi (<4 mjeseca) iznosi 500 µg/kg (Commission Recommendation 2006/576/EC).

Tablica 5. Najveće dopuštene i preporučene količine zearalenona u neprerađenim žitaricama namijenjenima za hranu i hranu za životinje

(Uredba Komisije (EZ) o utvrđivanju najvećih dopuštenih količina određenih kontaminanata u hrani 1881/2006; Commission Recommendation 2006/576/EC).

	Najveća dopuštena količina za hranu (µg/kg)	**Najveća preporučena količina za hranu za životinje (µg/kg)**
Žitarice		
Kukuruz	200	3000
Pšenica, ječam, zob	100	2000
Krmne smjese		
Prasad i nazimice	-	100
Krmače i tovne svinje	-	250
Mliječne krave, telad, ovce (uključujući janjad), koze (uključujući jarad)	-	500

2.5.6. Stopa prijenosa („*carry-over*“ efekt) u hranu životinjskog podrijetla

Efekt „*carry over*“ označava prijenos mikotoksina iz stočne hrane u jestiva životinjska tkiva životinja u čijoj su hranidbi korištena krmiva kontaminirana mikotoksinima. Određivanje stope prijenosa služi procjeni rizika za potrošača koji proizlazi iz kontaminirane hrane za životinje mikotoksinima koji mogu prijeći u životinjske proizvode. Definiran je kao omjer koncentracije mikotoksina u hrani i u hrani za životinje, gdje se stopa prijenosa mikotoksina odnosi na njegovu razinu u određenoj količini hrane životinjskog podrijetla (npr. prinos mlijeka po jedinici vremena pomnožen s razinom mikotoksina u mlijeku) za unos mikotoksina po životinji (DÄNICKE i BREZINA, 2013.).

Izvješće o prijenosu ne mora uvijek uzimati u obzir prijenos i svih metabolita mikotoksina, pa bi u idealnom slučaju određivanje bilo najprikladnije pod stacionarnim uvjetima koji pretpostavljaju da je unos određenog mikotoksina jednak njegovom izlučivanju. No, ovi uvjeti često nisu ispunjeni i to uglavnom zbog povećanja tijela tijekom rasta ili zbog određenih fizioloških stanja (npr. trudnoće) (FRIES, 1996.). Tablica 6 prikazuje rezultate ranijih istraživanja stope prijenosa zearalenona u mijeko.

Tablica 6. Stope prijenosa zearalenona u kravlje mlijeko (prilagođeno i dopunjeno iz COFFEY i sur., 2009.)

	„Carry over“ efekt (%)	**Referenca**
ZEN	0,00625	GALTIER (1998.)
	0,008	YIANNIKOURIS i JOUANY (2002.)
	0,016	YIANNIKOURIS i JOUANY (2002.)
	1,924	GALTIER (1998.)
	0,05	MIROCHA i sur. (1981.)

Na temelju podataka iz literatura o prijenosu zearalenona u mlijeko, utvrdilo se da hrana životinjskog podrijetla ne predstavlja značajan rizik za potrošača (DÄNICKE i WINKLER, 2015.).

Dević i Karača (2016.) istraživanjem su utvrdili stope prijenosa zearalenona iz stočne hrane (kukuruza, kupovne i domaće stočne hrane) u mlijeko, na temelju uzoraka podrijetlom s obiteljskih poljoprivrednih gospodarstava (OPG-a) s područja središnje Hrvatske (sjeveroistočno i jugozapadno od Zagreba), a prikupljenih tijekom prosinca 2015. i siječnja 2016. godine. Najmanja stopa prijenosa u mlijeko goveda iznosila je 0,03% a najveća stopa prijenosa 249,71%. U 25 uzoraka (41%), od 61 prikupljenog uzorka mlijeka iz kojih je bilo moguće izračunati stopu prijenosa, stopa prijenosa je bila manja od 1%. Izrazito visoka stopa prijenosa (>10%) utvrđena je u čak 33% prikupljenih uzoraka, no ti uzorci su upravo oni za koje je postojala sumnja da mljekari nisu dostavili sve vrste hrane kojoj su hranili životinju čije su uzorke mlijeka dali na analizu. Srednja stopa prijenosa, utvrđena u tom istraživanju, iznosila je 15,84%.

Pleadin i sur. (2015.b) proveli su istraživanje o incidenciji zearalenona u mesu svinja. Uzorci su uzeti sa svinjogojskih farmi na području sjeverne i zapadne Hrvatske, a prikupljeni su u 2014. godini. Treba naglasiti da navedene farme na kojima su uzeti uzorci samostalno proizvode stočnu hranu te da je, prema podatcima Hrvatskog hidrometeorološkog zavoda, na cijelom pretraživanom teritoriju vrijeme bilo hladno a količina oborina velika (od kolovoza do listopada). Na farmama na kojim se ustanovila visoka kontaminacija zearalenonom te hiperestrogenizam, 30 uzoraka mesa uzeto je od 11 muških i 19 ženskih tovnih svinja na klanju. Tablica 7 prikazuje rezultate provedenog istraživanja.

Tablica 7. Količina zearalenona u uzorcima mesa prikupljenjih na području sjeverne i zapadne Hrvatske 2014.godine (PLEADIN i sur., 2015.b).

Uzorak	**Podrijetlo**	**Broj uzoraka**	**Najveća određena količina (µg)**	**Najmanja određena količina (µg)**
Meso	Muške tovne svinje	11	4,31	0,34
	Ženske tovne svinje	19	1,09	0,30

2.5.7. Utjecaj na zdravlje čovjeka

U Portoriku zearalenon je nađen u krvi djevojčica s preranim spolnim sazrijevanjem (SAENZ DE RODRIGUEZ, 1984.), a autori pretpostavljaju da su se djevojčice hranile pilećim mesom životinja hranjenih kukuruzom podrijetlom iz SAD-a koji je bio kontaminiran tim mikotoksinom. Krajem devedesetih godina u Mađarskoj je primijećena povećana učestalost početka puberteta u djevojčica (prije osme godine), odnosno bolovi u području dojki i/ili povećanje dojki u dječaka (SZUETS i sur., 1997.). Kod djece u Portoriku zabilježeni su preuranjeni znaci puberteta što se povezalo s djelovanjem zearalenona. U nekim regijama Južne Afrike i Kine tumor jednjaka se povezivao s kukuruzom kontaminiranim *F. moniliforme* i *Fusarium graminearum* odnosno mikotoksinima koje produciraju ove plijesni (fumonizina i zearalenona) (BEARDALL i MILLER, 1994.). Neki autori smatraju da bi zbog estrogenog učinka ovog mikotoksina konzumiranje kukuruza trebalo ograničiti ženama s tumorom dojke koji ima estrogene receptore, iz razloga što zearalenon može stimulirati takve tumore (SHIER i sur. 2001.).

Kako je prinos fuzarijskih mikotoksina u hrani životinjskog podrijetla (primarno mlijeku i mesu) slab, ove namirnice ne predstavljaju značajnu opasnost za zdravlje ljudi ukoliko su farmske životinje hranidbom primale stočnu hranu kontaminiranu ovim mikotoksinima (PRELUSKY i sur., 1990., WHITLOW i sur., 2006.).

Kako bi se izbjegli negativni učinci fuzarijskih mikotoksina na zdravlje ljudi neophodna je sustavna kontrola mikotoksina u hrani i hrani za životinje. Sustav obavještavanja javnosti o opasnostima i rizicima te organizirano pristupanje utvrđivanju količina mikotoksina u hrani i hrani za životinje od važnosti je za sprječavanje dolaska hrane onečišćene mikotoksinima na tržište. Sustav žurnog uzbunjivanja za hranu i hranu za životinje (RASFF) na nivou u Europske unije namjenjen je upravo za tu svrhu. Njime se zemlje članice informiraju o pojavi ovih, kao i drugih, opasnosti porijeklom iz hrane (PLEADIN i sur., 2015.c).

3. ZAKLJUČAK

Sve su životinje izložene trovanju mikotoksinima, ali najviše farmske životinje, jer je stočna hrana najčešće kontaminirana mikotoksinima, neovisno o tome radi li se o uskladištenoj ili konzerviranoj hrani. Zearalenon (ZEN) je mikotoksin, metabolit plijesni iz roda *Fusarium* koji je po svojoj kemijskoj strukturi sličan estrogenim hormonima. Ukupni učinak estrogenog djelovanja zearalenona na farmske životinje možemo promatrati iz perspektive hranjivih sastojaka hrane, proizvodnje životinja i čovjeka kao krajnjeg potrošača. Po pitanju hranjivih sastojaka hrane, razvoj plijesni može umanjiti hranjive sadržaje stočne hrane i umanjiti njihovu hranidbenu vrijednost. U drugom slučaju, kontaminacija zearalenonom uzrokuje umanjeni reproduktivni potencijal farmskih životinja i povećanu učestalost oboljenja. I na koncu, većina se mikotoksina postupno akumulira u mesu i mlijeku životinja i na taj način predstavlja izravnu opasnost i za zdravlje čovjeka koji se nalazi na kraju prehrambenog lanca.

Stoga, osim sustavne kontrole mikotoksina u hrani i u hrani za životinje, nužno je i preventivno djelovanje u vidu metoda sprječavanja onečišćenja plijesnima i rasta plijesni i metoda detoksikacije, odnosno dekontaminacije onečišćenih proizvoda.

4. SAŽETAK

Žitarice i proizvodi od žitarica su u ishrani životinja, kao i u ljudskoj prehrani, među najzastupljenijim komponentama, a ujedno i vrlo pogodna sirovina za razvoj plijesni koje tvore mikotoksine. Značajan problem predstavlja mogućnost prijenosa mikotoksina i njihovih metabolita na ljude, putem jestivih životinjskih proizvoda. Postoji više od 300 izoliranih mikotoksina. Istraživanja se uglavnom odnose na one koji mogu narušiti zdravlje ljudi, domaćih konzumnih životinja, konja i kućnih ljubimaca, kao što su: aflatoksin B1 (AFB1), okarotoksin A (OTA), T-2 toksin, deoksinivalenol (DON), diacetoksiscirpenol (DAS), zearalenon (ZEN), fumonizin (F), patulin (PAT), tremorgene toksine te ergot alkaloide. Zearalenon je mikotoksin, metabolit plijesni iz roda *Fusarium* koji je po svojoj kemijskoj strukturi sličan estrogenim hormonima. Estrogeno djelovanje zearalenona dovodi do poremećaja urogenitalnog sustava, dok jača akutna ili kronična otrovanja mogu uzrokovati trajne posljedice na organima reproduktivnog sustava, kao što su degenerativne promjena testisa, atrofije jajnika, sterilitet te pobačaje. Kontaminacija hrane životinjskog podrijetla (primarno mlijeka i mesa) fuzarijskim mikotoksinima je niska ukoliko su farmske životinje unosile hranu kontaminiranu ovim mikotoksinima., stoga ove namirnice ne predstavljaju značajnu opasnost za zdravlje ljudi, Kako bi se izbjegli negativni učinci fuzarijskih mikotoksina na zdravlje ljudi neophodna je sustavna kontrola mikotoksina u hrani i hrani za životinje.

Ključne riječi: žitarice, zearalenon, kontaminacija, mikotoksini

5. SUMMARY

Oestrogenic Effects of Zearalenone in Farm Animals

Grains and grain products in animal diets, as well as in human consumption, are among the most frequently present components, but also very suitable as cultural medium for development of moulds producing mycotoxins. Transfer of mycotoxins and their metabolites via edible animal products to humans represents a significant problem. There are more than 300 isolated mycotoxins. Investigations are mainly focused on those that may harm human health, food animals, horses and pets, such as: aflatoxin B1 (AFB1), okhratoxin A (OTA), T-2 toxin, deoxynivalenol (DON), diacetoxscirpenol (DAS), zearalenone (ZEN), fumonisin (F), patulin (PAT), tremorgenic toxins and ergot alkaloids. Zearalenon is mycotoxin, mould metabolite from *Fusarium* genus which is chemically similar to oestrogen hormones. Oestrogenic activity of zearalenone leads to urogenital disorders, while stronger acute or chronic poisonings may cause permanent consequences on organs of the reproductive system such as degenerative testicle changes, ovarian atrophies, sterility and abortions. Contamination of food of animal origin (primarily milk and meat) *Fusarium* mycotoxins is low if the farm animals were fed with feed containing these mycotoxins, and thus these foodstuffs do not represent a significant danger to human health. To avoid negative effects of the *Fusarium* mycotoxins on human health the systematic control of mycotoxins in food as well as in animal feed is essential.

Key words: grains, zearalenon, contamination, mycotoxins

6. POPIS LITERATURE

ABRAMSON, D. (1998): Mycotoxin formation and environmental factors. In: Mycotoxins in Agriculture and Food safety, Sinha, K.K., Bhatnagar, D., Marcel Dekker, New York, pp. 255-277.

ALEXANDER, J., H. AUTRUP, D. BARD (2004): Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Zearalenone as undesirable substance in animal feed; The EFSA Journal. 89, 1-35.

ALLDRICK, A. J., M. HAJŠELOVÁ (2004) In: Mycotoxins in Food: Detection and Control. (Magan, N., Olsen, M. eds.), Woodhead Publishinng, Cambridge, England.

ANONYMUS (1997): FAO, Food and Nutrition Paper, Animal feeding and food safety, report of an Fao Expert Consultation, Rome, Italy, 10 to 14 March 1997.

ANONYMUS (1999): IARC, Overall evaluations of carcinogenicity to humans. IARC Monographs 73, 1-36.

ANONYMUS (2004): EFSA Journal, Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Zearalenone as undesirable substance in animal feed, The EFSA Journal 89, 1-35.

ANONYMUS (2006): EC, Commission recommendation of 17 August 2006 on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding. Off. J. Eur. Union L. 234-235.

BALZER, I., C. BOGDANIĆ, S. MUŽIC (1977): Natural contamination of corn (Zea mays) with mycotoxins in Yugoslavia. Ann. Nutr. Aliment. 31, 425-430. Cereals from endemic nephropathy region in Croatia. Microbiol. Aliment. Nutr. 10, 191-197.

BEARDALL, J. M., J. D. MILLER (1994): Diseases in humans with mycotoxins as possible causes. In: Miller J. D. and Trenholm H. L. (Eds.), Mycotoxins in grain. Compounds other than aflatoxins. Eagan Press, Pt. Paul (MN) USA, pp. 487-539.

BENNET, J. W., M. KLICH (2003): Mycotoxins. Clin. Microbiol. Rev. 16, 497-516.

BETINA, V. (1984): Biological effects of mycotoxins. In: V. Betina, Editor, Mycotoxins-Production, Isolation, Separation and Purification, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands. Pp. 25-36.

BETINA, V. (1989): Mycotoxins - bioactive molecules, Zearalenone and its derivatives, volume 9. Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo. Pp. 271-281.

BINDER, E. M. (2007): Managing the risk of mycotoxins in modern feed production. Anim. Feed Sci. Technol. 133, 149-166.

BOUTRIF, E. (1995): FAO programmes for prevention, regulation and control of mycotoxins in food. Nat. Toxins. 3, 322-326.

CHELKOWSKI, J. (1998): Fusarium and mycotoxins. In: Mycotoxins in Agriculture and Food Safety. (Sinha, K. S., Bhatnagar, D., eds.), New York, Marcel Dekker. Pp.45-64.

COFFEY, R., E. LUMMINS, S. WARD (2009): Exposure assessment of mycotoxins in dairy milk. Food control 20, 239-249.

DÄNICKE, S., E. SWIECH, L. BURACZEWSKA, K. H. UEBERSCHAR (2005): Kinetics and metabolism of zearalenone in young female pigs. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.) 89, 268-276.

DÄNICKE, S., J. WINKLER (2015): Invited review: Diagnosis of zearalenone (ZEN) exposure of farm animals and transfer of its residues into edible tissues (carry over). Food Chem. Toxicol. 84, 225-249.

DÄNICKE, S., U. BREZINA (2013): Kinetics and metabolism of the Fusarium toxin deoxynivalenol in farm animals: Consequences for diagnosis of exposure and intoxication and carry over. Food Chem. Toxicol. 60, 58-75.

DEVIĆ, D., S. KARAČA (2016): Kontaminacija hrane za životinje deoksinivalenolom i zearalenonom i pripadajuće stope prijenosa istih u mlijeko, Sveučilište u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološki fakultet, 7-23, 48-49.

DIRECTORATE-GENERARAL HEALTH AND CONSUMER PROTECTION (2003): Collection of Occurence dana of Fusarium toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU Members States, Report of experts participating in Task 3.2.10, 1-606.

D'MELLO, J. P. F., A. M. C. MacDONALD (1997): Mycotoxins. Anim. Feed Sci. Technol. 69, 155-166.

D'MELLO, J. P. F., J. K. PORTER, A. M. C. MACDONALD, C. M. PLACINTA (1997): Fusarium mycotoxins. U: Handbook of Plant and Fungal Toxicants. (D'Mello, J. P. F., ed.), CRC Press, Boca Raton, FL. Pp. 287-301.

DOMAĆINOVIĆ, M., J. ĆOSIĆ, T. KLAPEC, M. PERAICA, M. MITAK (2012): Znanstveno mišljenje o mikotoksinima u hrani za životinje; Radna grupa za donošenje znanstvenog mišljenja; (Zahtjev HAH – Z – 2012-05); Usvojeno 23. listopada 2012.

DOMIJAN, A-M., M. PERAICA, Ž. JURJEVIĆ, D. IVIĆ, B. CVJETKOVIĆ (2005): Fumonisin B1, fumonisin B2, zearalenone and ochratoxin A contamination of maize in Croatia. Food Add. Contam. 22, 677-680.

DURAKOVIĆ, S., L. DURAKOVIĆ (2003): Mikologija u biotehnologiji. Kugler, Zagreb.

DVORACKOVA, I. (1976): Aflatoxin inhalation and alveolar cell carcinoma. Brit. Med. J. 6011, 691.

EDWARDS, S., T. C. CANTLEY, B. N. DAY (1987a): The effects of zearalenone on reproduction in swine. II. The effect on puberty attainment and postweaning rebreeding performance. Theriogenology 28, 51-58.

EDWARDS, S., T. C. CANTLEY, G. E. ROTTINGHAUS, G. D. OSWEILER, B. N. DAY (1987b): The effects of zearalenone on reproduction in swine. I. The relationship between ingested zearalenone dose and anestrus in non-pregnant, sexually mature gilts. Theriogenology 28, 43-49.

EL-MAKAWY, A., M. S.HASSANANE, E. S. ABD ALLA (2001): Genotoxic evaluation for the estrogenic mycotoxin zearalenone; Reprod. Nutr. Dev. 41, 79-89.

FLANNIGAN, B. (1991): Mycotoxins. In: Toxic Substances in Crop Plants. (D'Mello, J. P. F., Duffus, C. M., Duffus, J. H., eds.), The Royal Society of Chemistry, Cambridge. 226-257.

FRIES, G. F. (1996): A model to predict concentrations of lipophilic chemicals in growing pigs. Chemosphere 32, 443-451.

GAFFOOR, I., F. TRAIL (2006): Characterization of two polyketide synthase genes involved in zearalenone biosynthesis in Gibberella zeae. Appl. Environ. Microbiol. 72, 1793-1799.

GALTIER, P. (1998): Biological fate of mycotoxins in animals. Rev. Méd. Vét.-Toulouse 149, 549-554.

GUTZWILLER, A., J. L. GAFNER, P. STOLL (2009): Effects of a diet containing fusarium toxins on the fertility of gilts and on bulbourethral gland weight in barrows. Arch. Anim. Nutr. 63, 16-25.

HAGLER, W. M., C. J. MIROCHA, S. V. PATHERE, J. C. BEHRENS (1979): Identification of the naturally occurring isomer of zearalenol producted by *Fusarium roseum* „Gibosum“ in rice culture; Appl. Environ. Microbiol. 37, 849-853.

HUSSEIN, S. H., M. BRASEL (2001): Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicology 167, 101-134.

JANSSEN, M. M. T., H. M. C. PUT, M. J. R. NOUT (1997): Natural toxins. In: DE VRIES, J.: Food Safety and Toxicity. CRC Press LCC, Florida (Chapter II).

JAY, J. M. (1992): Modern Food Microbiology, 4th Edition, Chapman & Hall, New York.

KABAK, B., A. D. W. DOBSON, I. VAR (2006): Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: A review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 46, 593-619.

KANORA, A. M. D. (2009): The role of mycotoxins in pig reproduction: a review. Vet. Med. 54, 565-576.

KATALENIĆ, M. (2004): Toksini Fusarium plijesni i drugi toksini. Meso VI, 31-35.

LINDSAY, D. G. (1985): Zeranol – a „nature-identical“ oestrogen. Food. Chem. Toxic 23, 767-774.

LOPEZ-GARCIA, R., D. L. PARK (1998): Management of mycotoxin hazards through post-harvest procedures. In: Bhatnagar, D., Sinha, K. K. (eds.): Mycotoxins in agriculture and food safety, Chapter 9. New York, Marcel Dekker.

LUONGO, D., R. DE LUNA, R. RUSSO, L. SEVERINO (2008): Effects of four Fusarium toxins (fumonisin B (1), alpha-zearalenol, nivalenol and deoxynivalenol) on porcine whole-blood cellular proliferation. Toxicon 52, 156-162.

MALEKINEJAD, H., R. MAAS-BAKKER, J. FINK-GREMMELS (2006): Species differences in the hepatic biotransformation of zearalenone. Vet. J. 172, 96-102.

MARIN, S., A. J. RAMOS, G. CANO-SANCHO, V. SANCHIS (2013): Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. Food Chem. Toxicol. 60, 218-237.

MAŠEK, T., V., ŠERMAN (2006): Utjecaj mikotoksina na zdravlje i proizvodnost preživača. Krmiva 48, 19-31.

MIHALJEVIĆ, Ž., J. PLEADIN, M. MITAK, T. BARBIR, A. VULIĆ, B. ŠOŠTARIĆ (2015): Mikotoksikoza zearalenonom u svinja - prikaz slučaja. Vet. stn. 46, 121-126.

MILLER, J. D. (1995): Fungi and mycotoxins in grain: implications for stored products research. J. Stor. Prod. Res. 31, 1-6.

MIRAGLIA, M., H. P. EGMOND, C. BRERA, J. GILBERT (1998): Mycotoxins and Phycotoxins in chemistry, toxicology and food safety; Alaken Inc. Fort Collins, Colorado, pp. 363-397.

MIROCHA, C. J., S. V. PATHRE, T. S. ROBISON (1981): Comparative metabolism of zearalenone and transmission into bovine milk. Food Cosmet. Toxicol. 19, 25-30.

MITAK, M., J. PLEADIN, N. PERŠI, A. VULIĆ, M. ZADARVEC (2011): Mikotoksini u krmnim sirovinama i smjesama tijekom 2009. i 2010. godine. Vet. stn. 42, 139-145.

MITAK, M., T. GOJMERAC, P. PAVIČIĆ, S. TOPOLKO (2001): Contamination of feedstuffs and animal feed mixtures for swine with zearalenon in the period from 1990 till 1999. Vet. stn. 32, 205-209.

MITTERBAUER, R., H. WEINDORFER, R. SAFAIE, M. LEMMENS, P. RUCKENBAUER, K. KUCHLER, G. ADAM (2003): A sensitive and inexpensive yeast bioassay for the mycotoxin zearalenone and other compounds with estrogenic activity; Appl. Environ. Microbiol. 69, 805-811.

NAGLIĆ, T., D. HAJSIG, J. MADIĆ, LJ. PINTER (2005): Veterinarska mikrobiologija – Specijalna bakteriologija i mikologija: Mikotoksikoze. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb: Hrvatsko mikrobiološko društvo.

NEMANIČ, A., V. BRLEK, D. RAMLJAK, D. MATEŠIĆ (1986): Incidence of mycotoxins in feeds and feed mashes for poultry and other domestic animals. In: Ožegović, L. (ed.) Special publications: second symposium on mycotoxins. Book LXXX, Academy of sciences and arts of Bosnia and Hercegovina, Sarajevo, pp. 51-57.

O'NEILL, K., A. DAMOGLOU, M. F. PATTERSON (1993): The stability of deoxynivalenol and 3-acetyldeoxynivalenol to gamma irradiation. Food Addit. Contamin. 10, 209-215.

OLSEN, M., H. PETTERSSON, K. H. KIESSLING (1981): Reduction of zearalenone to zearalenol in female rat liver by 3 alpha-hydroxysteroid dehydrogenase. Acta Pharmacol. Toxicol. 48, 157-161.

OSWEILER, G. D. (1996): Toxicology, The national veterinary medical seriesfor independent study: Zearalenone. Lippincott Williams & Wilkins, USA.

OŽEGOVIĆ, L., S. PEPELJNJAK (1995): Mikotoksikoze. Školska knjiga, Zagreb.

PEPELJNJAK, S., M. ŠEGVIĆ (2004): An overview of mycotoxins and toxigenic fungi in Croatia. In: A. Logrieco, & A. Visconti (Eds.), An overview of toxigenic fungi and mycotoxins in Europe. pp. 33-50.

PEPELJNJAK, S., Z. CVETNIĆ, M. ŠEGVIĆ KLARIĆ (2008): Okratoksin A i zearalenon: Kontaminacija žitarica i krmiva u Hrvatskoj (1977-2007) i utjecaj na zdravlje životinja i ljudi. Krmiva 50, 147-159.

PEPELJNJAK, S., I. BALZER (1982): A survey of mycological and mycotoxicological research on seeds in the nephropathic and anephropathic areas of Yugoslavia (Croatia). In: Ožegović, L. (ed.) Special publications: symposium on mycotoxins. Book LX, Academy of sciences and arts of Bosnia and Hercegovina, Sarajevo, pp. 75-80.

PEPELJNJAK, S., M. ŠEGVIĆ, Z. CVETNIĆ (2002): Mycotoxicological contamination of stored agricultural products in Croatia (30-year review). In: Korunić, Z. (ed.) Disinfection, disinfestation, deratization and protection of stored agricultural products, Korunić Press, Zagreb, pp. 97-110.

PEPELJNJAK, S., S. ČUTURIĆ (1978): Review on the investigation of mycotoxins, Vet. arhiv 48, 33-35.

PEPELJNJAK, S., S. ČUTURIĆ, S. TOPOLKO, M. MUNK (1979): Factors of mycotoxin conatmination of corn. Krmiva 21, 109-112.

PEPELJNJAK, S., Y. UENO, T. TANAKA (1992): Mycological situation and occurrence of fusariotoxins in cereals from endemic nephropathy region in Croatia. Microbiol. Aliment. Nutr. 10, 191-197.

PEPELJNJAK, S., Z. CVETNIĆ (1986): Mycological and mycotoxicological contamination of grains in a in a wide anephropathic area of SR Croatia. In: Ožegović, L. (ed.) Special publications: second symposium on mycotoxins. Book LXXX, Academy of sciences and arts of Bosnia and Hercegovina, Sarajevo, pp. 29-41.

PEPELJNJAK, S., Z. CVETNIĆ, M. ŠEGVIĆ-KLARIĆ (2008): Okratoksin i zearalenon: Kontaminacija žitarica i krmiva u Hrvatskoj (1977- 2007) i utjecaj na zdravlje životinja i ljudi. Krmiva 50, 147-159.

PEPELJNJAK, S., Z. CVETNIĆ, V. BRLEK (1999): Storage fungi and mycotoxins in Croatian storages. In: Korunić, Z. (ed.) Protection of stored agricultural products. Korunić Press, Zagreb, pp. 51-64.

PERAICA, M., B. RADIĆ, A. LUCIĆ, M. PAVLOVIĆ (1999): Toxic effects of mycotoksins in humans. Bull. World Health Org. 77, 754-766.

PERAICA, M., A. M. DOMIJAN (2001): Contamination of food with mycotoxins and human health. Arh. Hig. Rada Toksikol. 52, 23-35.

PERŠI, N., J. PLEADIN, A. VULIĆ, M. ZADRAVEC, M. MITAK (2011): Mikotoksini u žitaricama i hrani životinjskog podrijetla. Vet. stn. 42, 335-345.

PITTET, A. (1998): Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds–an updated review. Rev. Med. Vet. 149, 479-492.

PLEADIN, J., K. MARKOV, J. FRECE, A. VULIĆ, N. PERŠI (2014a): Bio-Prevalence, Determination and Reduction of Aflatoxin B1 in Cereals In: Aflatoxins: Food Sources, Occurrence and Toxicological Effects/Adina G. Faulkner (ed.). USA: Nova Science Publishers, 1-34.

PLEADIN, J., A. VULIĆ, N. PERŠI, M. ŠKRIVANKO, B. CAPEK, Ž. CVETNIĆ (2014b): Aflatoxin B1 occurrence in maize sampled from Croatian farms and feed factories during 2013. Food Control 40, 286-291.

PLEADIN, J., K. MARKOV J. FRECE (2014c): Aflatoksini - Onečišćenje, učinci i metode redukcije. Croat. J. Food Technol. Biotechnol. Nutrit. 9, 75-82.

PLEADIN, J., A. VULIĆ, N. PERŠI, M. ŠKRIVANKO, B. CAPEK, Ž. CVETNIĆ (2015a): Annual and regional variations of aflatoxin B1 levels seen in grains and feed coming from Croatian dairy farms over a 5-year period. Food Control 47, 221-225.

PLEADIN, J., M. ZADRAVEC, N. PERŠI, A. VULIĆ, V. JAKI, M. MITAK (2012b): Mould and mycotoxin contamination of pig feed in northwest Croatia. Mycotoxin Res. 28, 157-162.

PLEADIN, J., N. VAHČIĆ, N. PERŠI, D. ŠEVELJ, K. MARKOV, J. FRECE (2013): Fusarium mycotoxins occurence in cereals harvested from Croatian fields. Food Control 32, 49-54.

PLEADIN, J., Ž. MIHALJEVIĆ, T. BARBIR, A. VULIĆ, I. KMETIČ, M. ZADRAVEC, V. BRUMEN, M. MITAK (2015b): Natural incidence of zearalenone in Croatian pig feed, urine and meat in 2014. Food Add. Contam. 8, 277-283.

PLEADIN, J., J. FRECE, V. VASILJ, K. MARKOV (2015c): Fuzarijski mikotoksini u hrani i hrani za životinje; *Fusarium mycotoxins* in food and feed. Croat. J. Food Technol. Biotechnol. Nutrit. 10, 6-13.

PLEADIN, J., M. SOKOLOVIĆ, N. PERŠI, M. ZADRAVEC, V. JAKI, A. VULIĆ (2012a): Contamination of maize with deoxynivalenol and zearalenone in Croatia. Food Control 28, 94-98.

PRELUSKY, D. B., P. M. SCOTT, H. TRENHOLM, G. A. LAWRENCE (1990): Minimal transmission of zearalenone to milk of dairy cows. J. Environ. Sci. Health, Part B, 25, 87-103.

RAMOS, A. J., J. FINK-GREMMELS, E. HERNANDEZ (1996): Prevention of toxic effects of mycotoxins by means of non-nutritive adsorbent compounds. J. Food Protect. 59, 631-641.

RICHARDSON, K. E., W. M. HAGLER, C. J. MIROCHA (1995): Production of zearalenone a- and b-zearalenol and a- and b-zearalanol by *Fusarium* spp. in rice culture; J. Agric. Food Chem. 33, 862-866.

SAENZ, D. E., C. RODRIGUEZ (1984): Environmental hormone contamination in Puerto Rico. New Engl. J. Med. 310, 1741-1742.

SHIER, W. T., A. C. SHIER, W. XIE, C. J. MIROCHA (2001): Structure-activity relationships for human estrogenic activity in zearalenone mycotoxins. Toxicon 39, 1435-1438.

SREBOČAN, V. (1993): Veterinarska toksikologija: Biotoksini (mikotoksini). Zagreb: Medicinska naklada.

SURAI, P. F., M. MEZES, S. D. MELNICHUK, T. I. FOTINA (2008): Mycotoxins and animal health: From oxidative stress to gene expression. Krmiva 50, 35-43.

SZUETS, P., A. MESTERHAZY, G. Y. FALKAY, T. BARTOK (1997): Early telarche symptoms in children and their relation to zearalenon contamination in foodstuffs. Cereal Res. Commun. 25, 429-436.

ŠEGVIĆ KLARIĆ, M., I. KOSALEC, S. PEPELJNJAK (2007): Determination of zearalenone in maize samples from Croatia by TLC/HPLC method. Acta Microbiol. Immunol. Hun. 54, 113.

ŠPERANDA, M., B. LIKER, T. ŠPERANDA, T. ŠERIĆ, Z. ANTUNOVIĆ, Ž. GRABAREVIĆ, Đ. SENČIĆ, Z. STEINER (2005): The effect of clinoptilolite on haematological and biochemical indicators of weaned piglets fed on fodder mixture contaminated by zearalenone, http://www.bib.irb.hr/datoteka/ 252289.SperandaM.doc

ŠUMIĆ,Z.(2009):Mikotoksini.
http://www.tehnologijahrane.com/mikrobiologija/plesni/mikotoksini

TSAKMAKIDIS, I. A., A. G. LYMBEROPOULOS, T. A. KHALIFA, C. M. BOSCOS, A. SARATSI, C. ALEXOPOULOS (2008): Evaluation of zearalenone and alpha-zearalenol toxicity on boar sperm DNA integrity. J. Appl. Toxicol. 28, 681-688.

TURNER, N. W., S. SUBRAHMANYAM, S. A. PILETSKY (2009): Analytical methods for determination of mycotoxins: A rewiew. Anal. Chem. Acta 632, 168-180.

URRY, W. H., H. L. WEHRMEISTER, E. B. HODGE, P. H. HIDY (1966): The structure of zearalenone. Tetrahedron Let. 27, 3109-3114.

UTERMARK, J., P. KARLOVSKY (2007): Role of zearalenone lactonase in protection of Gliocladium roseum from fungitoxic effects of the mycotoxin zearalenone. Appl. Environ. Microbiol. 73, 637-642.

VISCONTI, A. M. SOLFRIZZO, M. B. DOKO, A. BOENKE, M. PASCALE (1996): Stability of fumonisins at different storage periods and temperatures in gamma irradiated maize. Food Add. Contamin. 13, 929-938.

VISCONTI, A., M. PASCALE (1998): Determination of zearalenone in corn by means of immunoaffinity clean-up and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. J. Cromatog. A 815, 133-140.

VULIĆ, A., J. PLEADIN, N. PERŠI (2011): Determination of T-2 and HT-2 toxins in commodities and feed in Croatia. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 86, 294-297.

WHITLOW, L. W., D. E. DIAZ, B. A. HOPKINS, W. M. HAGLER (2006): Mycotoxins and milk safety: the potential to block transfer to milk. <http://en.engormix.com/MA-mycotoxins/ articles/mycotoxins-milk-safety-potential-t199/ p0.htm>. Pristupljeno lipanj 2015.

YIANNIKOURIS, A., J. P. JOUANY (2002): Mycotoxins in feeds and their fate in animals: A review. Anim. Res. 51, 81-89.

ZINEDINE, A., J. M. SORIANO, J. C. MOLTO, J. MANES (2007): Review on the toxicity, occurence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenonone: An oestrogenic mycotoxin. Food. Chem. Toxicol. 45, 1-18.

ZOLLNER, P., J. JODLBAUER, M. KLEINOVA, H. KAHLBACHER, T. KUHN, W. HOCHSTEINER, W. LINDNER (2002): Concentration levels of zearalenone and its metabolites in urine, muscle tissue and liver samples of pigs fed with mycotoxin-concentraced oats; J. Agri. Food Chem. 24, 2494-2501.

ZWIERZCHOWSKI, W., K. OBREMSKI, L. ZIELONKA, E. SKORSKA-WYSZYNSKA, M. GAJECKA, E. JAKIMIUK, M. POLAK, B. JANA, L. RYBARCZYK, M. GAJECKI (2006): The impact of zearalenone on the level of the selected estrogens in blood serum of sexually immature gilts. Pol. J. Vet. Sci. 9, 247-252.

7. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 19. ožujka 1992. u Splitu. Osnovnu školu pohađala sam u Hvaru, a potom upisala Privatnu jezičnu gimnaziju Pitagora u Splitu koju sam završila 2010. godine. Veterinarski fakultet upisala sam iste godine. Tijekom studija aktivno sam sudjelovala u radu Klinike za porodništvo i reprodukciju Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Na navedenoj klinici provela sam dvije godine kao demonstrator na Kolegijima Porodništvo domaćih životinja I. i II. te Bolestima pasa i mačka iz područja reprodukcije. Istodobno sam volontirala na navedenoj klinici u svakodnevnom kliničkom radu.