

OKRATOKSIN A I ZEARALENON: KONTAMINACIJA ŽITARICA I KRMIVA U HRVATSKOJ (1977-2007) I UTJECAJ NA ZDRAVLJE ŽIVOTINJA I LJUDI

OCHRATOXIN A AND ZEARALENON: CEREALS AND FEED CONTAMINATION IN CROATIA (1977-2007) AND INFLUENCE ON ANIMAL AND HUMAN HEALTH

S. Pepeljnjak, Zdenka Cvetnić, Maja Šegvić Klarić

Pregledno znanstveni članak
Premljeno: 24. travanj 2008.

SAŽETAK

Mikotoksini kao sekundarni metaboliti plijesni usko su povezani s distribucijom plijesni, njihovim vrstama i toksinogenim sojevima, mikroklimom, načinom sabiranja i skladištenja usijeva. Naša istraživanja u proteklih 30 godina pokazuju da *Fusarium* i *Penicillium* vrste podjednako (40-60%) dominiraju u usjevima zbog čega su žitarice i krmiva često kontaminirani okratoksinom A (OTA) i zearalenonom (ZEA). OTA je nefrotoksin s potencijalnim karcinogenim djelovanjem u ljudi, koji se dovodi u vezu s razvojem endemske nefropatije (EN). ZEA je mikotoksin s uterotropnim, estrogenim i anaboličkim djelovanjem u domaćih životinja s potencijalnim negativnim učinkom na ravnotežu spolnih hormona u ljudi. Tijekom 30-godišnjih istraživanja OTA i ZEA su u prosjeku dokazani u 20%, odnosno u 30% uzoraka. Znatno veće koncentracije ovih mikotoksina nađene su tijekom izuzetno vlažne 1978. (68900 µg OTA/kg i 275800 µg ZEA/kg) i 1980. (4700 µg OTA/kg), za vrijeme domovinskog rata (3200 µg OTA/kg i 19900 µg ZEA/kg) te u izrazito hladnoj (temperaturni stres) i vlažnoj 2004. (29430 µg ZEA/kg). Tijekom ostalih godina koncentracije ovih mikotoksina kreću se od 0,26 do 220 µg/kg (OTA) te od 0,39 do 3000 µg/kg (ZEA). U posljednje vrijeme sve se više važnosti pridaje ko-kontaminaciji usjeva mikotoksinima zbog njihovog mogućeg sinergističkog učinka. Tako je posljednjih godina dokazana ko-kontaminacija kukuruza i drugih žitarica sa OTA i ZEA u 37% odnosno 13,5% uzoraka. Međutim, zadnjih godina utvrđene koncentracije su niže u odnosu na prethodna razdoblja što se može pripisati relativno sušnom razdoblju. Iako je zbog toga smanjen rizik trovanja to ne isključuje sustavni unos subtoksičnih koncentracija mikotoksina u organizam te njihov mogući toksinopatogeni sinergizam koji se negativno odražava na enzimatske i imunološke funkcije u ljudi i životinja.

Ključne riječi: okratoksin A, zearalenon, zdravlje

Stjepan Pepeljnjak, Zdenka Cvetnić, Maja Šegvić Klarić, Zavod za mikrobiologiju, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Schrottova 39, 10000 Zagreb, Hrvatska.

UVOD

Mikotoksini su sekundarni toksični metaboliti plijesni koji kontaminiraju hranu te ovisno o koncentraciji mogu izazvati trovanja životinja i ljudi. Žitarice se mogu kontaminirati mikotoksinima tijekom rasta plijesni na biljci u polju ili na zrnavlju u skladištu. Veće doze mikotoksina uzrokuju akutna trovanja dok dugotrajni unos subtoksičnih koncentracija može rezultirati estrogenim, imunosupresivnim ili čak karcinogenim učincima. U životinja su odbijanje i smanjena konverzija hrane, reproduktivni poremećaji te imunosupresija najčešće posljedice kroničnog unosa mikotoksina, što uzrokuje velike gubitke u animalnoj proizvodnji.

Vrste iz rodova *Fusarium*, *Penicillium* i *Aspergillus*, kao najčešći kontaminanti žitarica, tvore čitav niz mikotoksina među kojima okratoksin A (OTA) i zearalenon (ZEA) zauzimaju značajno mjesto s obzirom na negativne učinke na zdravlje životinja i ljudi te štete u poljoprivrednoj i animalnoj proizvodnji. Glavni producenti OTA su *Aspergillus ochraceus* i *Penicillium verrucosum* koji često kontaminiraju uskladištene žitarice. Okratoksin A je primarno nefrotoksičan, a u velikim dozama je i hepatotoksičan. Prema IARC-u, OTA je mikotoksin s mogućim karcinogenim učinkom u ljudi te je svrstan u skupinu 2B (IARC, 1993). Dovodi se u vezu s razvojem endemske nefropatije (EN) i tumora bubrežne nakapnice i mokraćovoda u ljudi. Ova bolest zahvaća ruralnu populaciju u određenim dijelovima Bosne i Hercegovine, Bugarske, Rumunjske i Srbije, a u Hrvatskoj je EN ograničena na 14 sela u Brodsko-posavskoj županiji. Zearalenon je mikotoksin s estrogenim djelovanjem kojeg tvore vrste *Fusarium* (*F. graminearum*). Odgovoran je za reproduktivne poremećaje u domaćih životinja, posebice svinja. Veže se za estrogene receptore uzrokujući hormonsku neravnotežu što dovodi do hipersetrogenizma, prolapsa vagine i rektuma, resorpcije fetusa i pobačaja (Kosalec i Pepeljnjak, 2004). Osim toga, izloženost velikim dozama ZEA u hrani dovodi se u vezu s preuranjenim pubertetom (Peraica i sur., 2001)

U proteklih 35 godina bilježene su varijacije u distribuciji, učestalosti i koncentracijama OTA i ZEA u žitaricama i krmivu na području Hrvatske. U ovom radu bit će razmatran nalaz ovih mikotoksina u pojedinim razdobljima te njihova važnost za zdravlje životinja i ljudi.

OKRATOKSIN A I ZEARELENON U ŽITARICAMA I KRMNIM SMJESAMA U HRVATSKOJ

U proteklih 30 godina analizirano je preko 4000 uzoraka uskladištenih žitarica i krmiva na području sjeverne i srednje Posavine (područje endemske nefropatije-EN). Istraživanja pokazuju da nema razlike u sastavu mikoflore, međutim učestalost dominantnih vrsta plijesni je za oko 20% veća na nefropatskom području. Dominantnu mikofloru čine vrste iz rodova *Fusarium* (40-60%), *Penicillium* (40-60%) i *Rhizopus* (33-50%), a zatim slijede *Aspergillus* sp. (26-40%), *Alternaria* (30-40%), *Absidia* (20-30%) i *Cladosporium* (oko 20%) (Pepeljnjak i Šegvić, 2004; Cvetnić i sur., 2005; Šegvić Klarić i sur., 2007). Veće opterećenje plijesnima zabilježeno je tijekom Domovinskog rata (1992-1994) kada je ukupan porast kontaminacije žitarica plijesnima bio povećan za 14,2 % (Pepeljnjak i Šegvić, 2004).

Tablica 1 prikazuje 30-godišnji pregled istraživanja kontaminacije žitarica i krmiva u Hrvatskoj. U vlažnim godinama, odnosno za vrijeme produljenih zima i temperaturnih oscilacija utvrđene su znatno veće koncentracije ovih mikotoksina, posebice ZEA. Tako su tijekom izuzetno vlažne 1978. maksimalne koncentracije iznosile 68000,9 µg OTA/kg i 275000,8 µg ZEA/kg, tijekom 1980. 4000,7 µg OTA/kg, dok je u izrazito hladnoj i vlažnoj 2004. ZEA dokazan u koncentraciji od 29000,43 µg/kg. Inače su *Fusarium* i *Penicillium* vrste učestalije u umjerenom klimatskom području. Optimalni uvjeti rasta i tvorbe mikotoksina kod ovih plijesni su temperatura veća od 20 °C i sadržaj vlage tj. a_w 0,87 (Pitt i sur., 2000). Nekim fuzarijama, primjerice *F. graminearum*, pogoduju temperaturne oscilacije između 15 i 30 °C pri čemu se povećava biosinteza ZEA (Dojin i Bullerman, 1999), što objašnjava nalaz većih koncentracija ZEA u pojedinim godinama. Osim toga, veće koncentracije su zabilježene i za vrijeme Domovinskog rata (3000,2 µg OTA/kg i 19000,9 µg ZEA/kg). Ovaj porast mikološke i mikotoksinske kontaminacije usjeva može se pripisati utjecaju ratnih razaranja, zapuštenosti skladišta i polja te propadanju organskog materijala. Tijekom ostalih godina koncentracije OTA i ZEA kreću se od 0,02 do 220 µg/kg, odnosno od 0,39 do 3000 µg/kg (ZEA). Iako je OTA prisutan u usjevima s područja EN i neendemskih regija, veća učestalost i često puta veće koncentracije dokazane

su u žitaricama iz endemske regije (Pepeljnjak i Šegvić, 2004). Ova kontaminacija uskladištenih usjeva u individualnim domaćinstvima EN regije

posljedica je specifičnih mikroklimatskih uvjeta, posebice veće vlažnosti kojoj doprinosi dugotrajna magla što se javlja kroz čitavu godinu.

Tablica 1. Pregled nalaza OTA i ZEA u žitaricama i krmivu na području Hrvatske

Table 1. OTA and ETA findings in cereals and feeds in Croatia

Godina Year	Uzorak - Sample (N = broj uzoraka)	Učestalost / raspon koncentracija (µg/kg) Frequency / range of concentration (µg/kg)	Literatura Literature
1975/76	kukuruz - maize (191)	26% OTA 45-5210 2,6% ZEA 43-10000	Balzer i sur., 1977
1976/77	žitarice - cereals (272)	6,6% OTA 40-2100 6,0% ZEA 51-4200	Pepeljnjak i Čuturić, 1978
1977	kukuruz - maize (267)	16% ZEA 100-4000	Pepeljnjak i sur., 1979
1978/79	žitarice - cereals (116)	56% OTA 10-68900 46,5% ZEA 10-275800	Pepeljnjak i Balzer, 1982
1980/81	žitarice - cereals (126)	82% OTA 10-4700	Pepeljnjak i Cvetnić, 1985
1984/85	žitarice - cereals (46)	23,9% OTA 20-320 15,2% ZEA 560-3000	Pepeljnjak i Cvetnić 1986
1984/85	krmivo - feed (32)	65,6% OTA 50-1620 25% ZEA 100-1200	Pepeljnjak i Cvetnić 1986
1985	krmivo - feed (369)	10,5% OTA 120-180 29% ZEA 100-6880	Nemanić i sur., 1986
1988-97	krmivo - feed (156) kukuruz - maize (378)	19,4 i 10% ZEA srednje konc. 150-1200 med.concentr.	Pepeljnjak i sur., 1999
1990-99	krmivo - feed (459)	21,19% ZEA 50-1200	Mitak i sur., 2001
1991	žitarice - cereals (111)	43,2% ZEA 1-19900	Pepeljnjak i sur., 1992
1992/95	kukuruz, žitarice (234) maize, cereals (234)	10% OTA 1-3200 10% ZEA 23-10700	Pepeljnjak i sur., 1999
1996/97	kukuruz - maize (201)	23% OTA 0,26-614	Jurjević i sur., 1999, 2002
1998/01	kukuruz - maize (136)	12,3% OTA 10-1400 10% ZEA 200-2700	Pepeljnjak i sur., 2002
1999/00	pšenica - wheat (92) kukuruz - maize (51)	75,8% OTA 0,019-140 33,3% OTA 0,019-40	Puntarić i sur., 2001
2002/03	kukuruz - maize (49)	39% OTA 0,9-2,54 83% ZEA 0,43-39 ko-kontaminacija 37%	Domijan i sur., 2005
2004/05	kukuruz - maize	26% ZEA 6030-29430	Šegvić Klarić i sur., 2007
2006/07	žitarice - cereals krmivo - feed	91% ZEA 27,7-1182 16,6% OTA 2,55-31,65 100% ZEA 49,7-1168 20% OTA 2-12,9	vlastiti podaci

U posljednje vrijeme velika pozornost pridaje se ko-kontaminaciji hrane mikotoksinima. Za sada su u Hrvatskoj provedena svega četiri takva istraživanja pri čemu je dokazana ko-kontaminacija kukuruza s OTA i fumonizinom B₁+B₂ (FB₁+FB₂) u 22% uzoraka, zatim s OTA, FB₁+FB₂ i bovericinom (BEA) u 2% uzoraka (Jurjević i sur., 1999, 2002) te OTA i ZEA u 37% (Domijan i sur., 2005), odnosno 13,5% uzoraka (tablica 1).

UTJECAJ OTA I ZEA NA ZDRAVLJE ŽIVOTINJA I LJUDI

Okratoksin A je nefrotoksičan za sve ispitane monogastrične sisavce. Osim nefrotoksičnog učinka, OTA ima hepatotoksično, neurotoksično, imunosupresivno, teratogeno, genotoksično i karcinogeno djelovanje. Prema vrijednostima LD₅₀ nakon oralne primjene OTA, najosjetljiviji su psi (0.2 mg/kg tj. t.) i svinje (1 mg/kg tj.t.), dok su najotporniji štakori (20-30 mg/kg tj. t.) i miševi (46-58 mg/kg tj. t.) (JECFA, 2001).

Zbog sličnosti s fenilalaninom OTA inhibira biosintezu makromolekula (proteini, RNA, DNA) i ATP-a, povećava lipidnu peroksidaciju te negativno utječe na metabolizam glukoze i homeostazu kalcija u biološkom sustavu (JECFA, 2001; Petrik i sur., 2003). Specifičan nefrotoksični učinak OTA je poremećaj u sustavu transporta organskih aniona, koji je lokaliziran u četkastoj i bazolateralnoj membrani zavijenih proksimalnih tubula što dovodi do njihove degeneracije (Friis i sur., 1988).

Studije provedene u Danskoj, Mađarskoj, Skandinavskim zemljama i Poljskoj govore u prilog činjenici da OTA igra glavnu ulogu u etiologiji nefropatije u svinja. OTA u koncentracijama od 0,2 do 4 mg/kg u hrani tijekom 3 mjeseca u svinja uzrokuje nefropatiju koju karakterizira degeneracija proksimalnih tubula, glikozurija i proteinurija, povećana koncentracija ureje i kreatinina u krvi, smanjenje koncentracije serumskih proteina i glukoze te promjene u aktivnosti specifičnih enzima (Pfohl-Leszkowicz i Manderville, 2007). U EN području Hrvatske OTA je utvrđen u 15,7% uzoraka krvi svinja (36-77 µg/L), u 10,4%

uzoraka jetre (do 21,0 µg/kg), te u 10,4% uzoraka bubrega (16-77,0 µg/kg), dok u uzorcima organa svinja uzetih u anefropatičnim područjima, OTA nije dokazan (Pepeljnjak i Cvetnić, 1985). U Bugarskoj je također dokazana povezanost učestalosti nefropatije i nalaza OTA u mišićima (oko 4 µg/kg), bubrezima (oko 9 µg/kg) i jetri pilića (7-10 µg/kg) (Stoev i sur., 2002). S druge strane, u Bugarskoj je u svinja zabilježena nefropatija (Stoev i sur., 1998) čija se klinička slika razlikuje od klasične nefropatije koju je opisao Krogh (1980). Koncentracija OTA u serumu oboljelih životinja bila je znatno niža od one koja uzrokuje akutnu kliničku sliku. Ova saznanja skrenula su pozornost na moguću ulogu drugih mikotoksina s nefrotoksičnim djelovanjem. Stoev i sur. (2001) su u eksperimentalno izazvanoj nefropatiji svinja dokazali sinergistički učinak OTA i penicilinske kiseline pri čemu je klinička slika bila slična ranije zabilježenoj (Stoev i sur., 1998). Osim toga, ne može se zanemariti utjecaj drugih nefrotoksičnih mikotoksina kao što su citrinin (CIT) i FB₁ koji se istodobno pojavljuju u hrani s OTA (Jurjević i sur., 1999, 2002), a za koje je dokazano sinergističko i/ili aditivno djelovanje *in vivo* (Speijers i Speijers, 2004; Domijan i sur., 2005) i *in vitro* (Creppy i sur., 2004; Šegvić Klarić i sur., 2007, 2008). U animalnoj proizvodnji od posebne je važnosti imunotoksično djelovanje malih koncentracija OTA. Ovaj mikotoksin u dozi 5-50 µg/kg tj.t. dnevno tijekom 28-34 dana smanjuje indeks fagocitoze i značajno potencira eksperimentalno izazvanu pneumoniju u svinja (Müller i sur., 1999). Također, u svinja hranjenih krmivom (kontaminirano s *A. ochraceus*), koje je sadržavalo 1-3 mg OTA/kg zabilježena je povećana učestalost infekcija *Salmonella choleraesuis* pri čemu su bakterije dokazane u jetri i stolici životinja. Istovremeno, davanjem OTA u hrani (1 mg/kg) i imunizacijom na *S. choleraesuis* u životinja je uočena hemoragična dijareja što ukazuje na imunosupresiju i odgađanje imunizacije zbog djelovanja OTA (Stoev i sur., 2000).

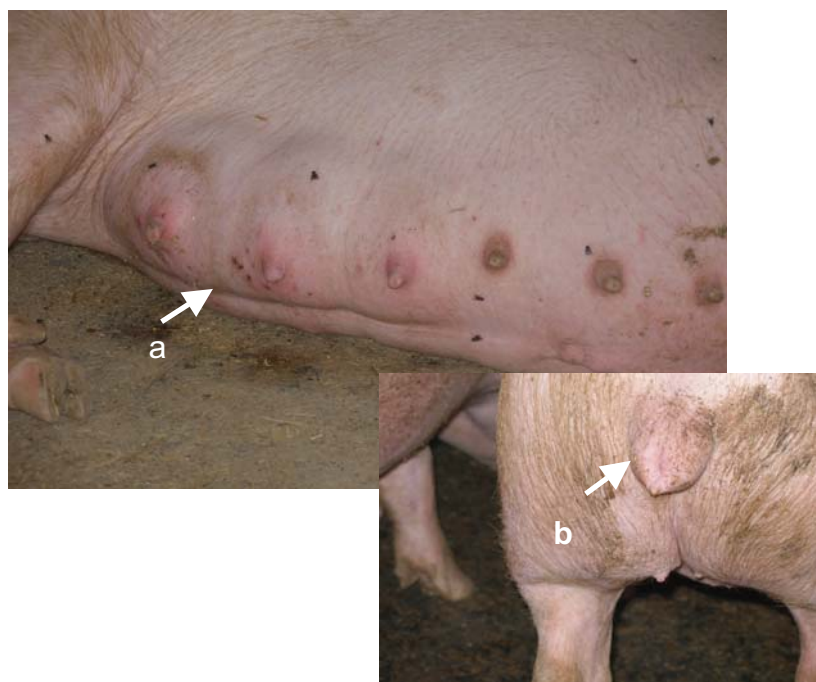
U 10-godišnjoj studiji (1985-1994) koju su proveli Radić i sur., (1997), učestalost OTA u serumu ljudi s EN-područja bila je 0,2-4,5%, u koncentracijama 2-50 ng/mL te 0,4-2,4%, u serumu stanovnika iz ne-EN

područja (2-10 ng/mL). Nedavno je ispitana učestalost OTA u krvi opće populacije u 5 najvećih Hrvatskih gradova uključujući Rijeku (0,18 ng/mL), Split (0,25 ng/mL), Zagreb (0,26 ng/mL), Varaždin (0,59 ng/mL) i Osijek (0,68 ng/mL). Na temelju ovih rezultata procijenjen je dnevni unos OTA od 0,4 ng/kg tj. t., što je znatno niže od podnošljivog dnevnog unosa koji propisuje WHO (16 ng/kg tj.t.) (Peraica i sur., 1999, 2001). Razlike u nalazima OTA u krvi populacije iz EN i ne-EN područja povezane su s prehranbenim navikama i varijabilnosti nalaza OTA u hrani, što varira od godine do godine, a ovisi o mikroklimatskim uvjetima koji mogu pogodovati rastu plijesni i tvorbi ovog mikotoksina. Međutim, zbog dugog vremena poluživota OTA u ljudi (35 dana), unos malih koncentracija OTA pridonosi duljem vremenu izloženosti, a time i mogućem toksičnom djelovanju ovog mikotoksina. OTA djeluje genotoksično i karcinogeno uzrokujući oksidacijska oštećenja DNA i stvaranje DNA adukata koji su dokazani u bubrežnom tkivu ljudi oboljelih od EN i tumora bubrežne nakapnice i mokraćovoda (Pfohl-Leszkowicz i sur., 2007). Stoga Pfohl-Leszkowicz i Manderville (2007) predlažu da se ovaj mehanizam djelovanja uzme u obzir pri određivanju maksimalnih dozvoljenih koncentracija OTA u hrani za ljude.

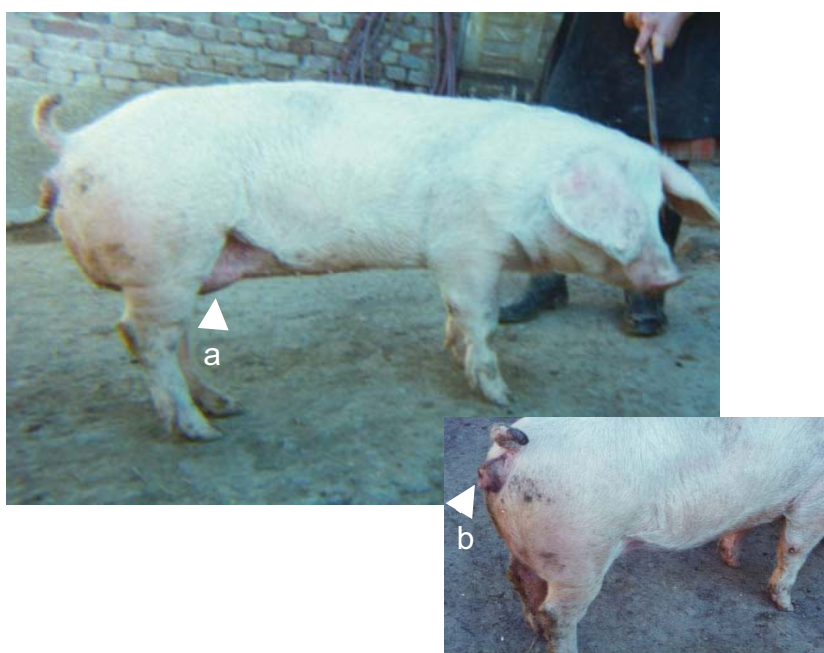
Zearalenon je ne-steroidni estrogenski mikotoksin, koji se pokazao slabo toksičnim za miševе, štakore i zamorčice ($LD_{50} >2000-20000$ mg/kg tj.t.) nakon oralne aplikacije (JECFA, 2000). Zbog sličnosti s estradiolom, hormonom kojeg luče ovariji sisavaca, ZEA se kompetitivno veže za estrogene receptore. U probavnom sustavu ZEA se reducira u zearalenol koji ima do 4 puta jači estrogenski učinak. ZEA uzrokuje poremećaje u reproduktivnom i endokrinom sustavu, te genotoksičnost, a u velikim koncentracijama djeluje imunotoksično na humane T-limfocite (Zinedine i sur., 2007). Osim toga, smatra se da u životinja djeluje kao tumor promotor te je prema IARC ovaj mikotoksin svrstan u skupinu 3 (IARC, 1999). Istraživanja pokazuju da su svinje i ovce najosjetljivije na djelovanje ZEA u odnosu na stoku, perad i glodavce (Richard, 2007). Naime, NOEL (no observable effect level) doza u svinja je 40 μ g/kg tj. t. dnevno, dok za štakore iznosi 100 μ g/kg tj. t. dnevno

(JECFA, 2000). Doze od 0,5 do 1 mg/kg u hrani uzrokuju eritem oko repa i leđa, otečenje vulve i mamarne regije u odraslih ženki i mladunčadi svinja, dok veće doze (1,5-5 mg/kg) uzrokuju hiperestrogenizam. Tijekom zadnjeg uzorkovanja koje je 2007. provedeno u individualnim domaćinstvima nefropatičnog područja Hrvatske, na obiteljskom gospodarstvu (Slavonski Kobaš) zabilježeno je otečenje mamarne regije u krmače i otečenje vulve kod ostalih svinja te se pretpostavlja da se radi o akutnoj zearalenontoksikozi (slika 1). Tome u prilog govori i nalaz ZEA u 100% uzoraka krmnih smjesa od čega je 80% sadržavalo ZEA u koncentracijama od 455 do 1168 μ g/kg (tablica 1). Slične promjene u svinja (Slika 2) su i ranije zabilježene na obiteljskim farmama u Hrvatskoj (Ožegović i Pepeljnjak, 1995). U mužjaka svinja ZEA smanjuje koncentraciju testosterona, težinu testisa i spermatogenezu te potiče feminizaciju i smanjuje libido. Velike doze (50-100 mg/kg) negativno utječu na ovulaciju, začeće, usadivanje zametka te razvoj fetusa i praseta (Kosalec i Pepeljnjak, 2004; Richard, 2007). Ranije je na tržište plasiran sintetski oblik tzv. zeranol koji je korišten kao anaboličar za domaće životinje. Iako je 1989. Europska zajednica zabranila njegovo korištenje, ovaj se preparat još uvijek primjenjuje u nekim djelovima svijeta (Zinedine i sur., 2007).

Smatra se da je ZEA odgovoran za preuranjeni pubertet u djece. Naime, u Puerto Ricu je ZEA dokazan u krvi djece kod kojih su zabilježene spomenute razvojne promjene (Peraica i sur., 2001). U jugoistočnoj Mađarskoj je zabilježena povećana učestalost preuranjenog razvoja grudi u djece pri čemu su u serumu dokazane koncentracije od 18,9 do 103,5 μ g ZEA/mL. Veće koncentracije ZEA utvrđene su i u hrani koju su djeca konzumirala (Szuetz i sur., 1997). Iako nema epidemioloških studija koje ukazuju na karcinogenost ZEA za ljude, smatra se da bi ovaj mikotoksin mogao imati udjela u razvoju karcinoma dojke u žena. Naime, Shier i sur. (2001) su procijenili da u žene težine 45 kg, koja pojede 100 g kukuruznih pahuljica kontaminiranih s 13-20 μ g ZEA/kg, ZEA u plazmi doseže koncentraciju (3,1 nM), koja znatno stimulira proliferaciju stanica karcinoma dojke MCF7.



Slika 1. Eritem marnarne regije (a) i otečenje vulve (b) u mladih svinja
Figure 1. Erythema of mammary region (a) and edema of vulva (b) in young pigs



Slika 2. Zearalenontoksikoza u krmače: edem marnarne i ingvinalne regije (a) i vulve (b)
Figure 2. Zearalenontoxicosis in sow: edema of mammary and inguinal region (a) and vulva (b)

DEKONTAMINACIJA OTA I ZEA

Mikološka i mikotoksinska kontaminacija usklađivenih usjeva i posljedična intoksikacija životinja može se spriječiti na nekoliko načina: 1) pravovremenim branjem uroda i sušenjem na vlagu 13-14% ili čuvanjem u anaerobnim uvjetima; 2) uklanjanjem oštećenih i kontaminiranih zrna; 3) u slučaju pregrijavanja kukuruzne mase, provoditi hlađenje provjetravanjem (insuflacija zraka), i izbjegavati eleviranje jer se time povećava širenje kontaminacije i na nekontaminirana zrna (Pepeljnjak, 2005). Premda je prevencija kontaminacije najsigurnija i najjeftinija metoda, u sprječavanju intoksikacije životinja mogu

se primijeniti i neki fizikalni, kemijski i biološki postupci (tablice).

Većina mikotoksina je termostabilna pa se termička obrada rijetko koristi za dekontaminaciju žitarica i njihovih prerađevina. Ipak, termička obrada se pokazala učinkovitom u eliminaciji ZEA i OTA u nekim supstratima. Naime, kuhanje kukuruza reducira ZEA do 83%, dok termička obrada pšeničnog brašna eliminira 76% OTA. Do sada je veliki broj istraživanja bio usmjeren na mogućnost primjene različitih adsorbensa kao što su alumosilikati, bentonit, gline, smole i u novije vrijeme manan-oligosaharidi (glukomanan) iz vanjske ovojnice *Sacharomyces cerevisiae*. Međutim, teško je naći univerzalan

Tablica 2. Dekontaminacija i biodegradacija OTA

Table 2. Decontamination and biodegradation of OTA

Metode - Methods	Učinak - Effect	Literatura - Literature
Fizikalne metode - Physical methods		
Adsorbenti - adsorbents	adsorpcija - adsorption	
hidratizirani natrijevi i kalcijevi alumosilikati hydratized sodium and calcium alumosilicates	1,3 mg/g adsorbenta	Galvano i sur., 2001
bentonit - bentonite	1,9-9 mg/g	Huwig i sur., 2001
kolestiramin - cholestiramine	9,6 mg/g	Huwig i sur., 2001
aktivni ugljen - active coal	91-119 mg/g	Galvano i sur., 2001
glukomanan - glucomanane	12,5%	Yannikouris i Jouany, 2002
Termička obrada - thermal treatment		
250°C/40 min	degradacija - degradation	
	76% u brašnu - in flour	Peraica i sur., 2002
Kemijske metode - Chemical methods		
amonijak i kalcij hidroksid/96°C	degradacija - degradation	
	90-100% u krmivu - in feed	Peraica i sur., 2002
Biološke metode - Biological methods		
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	biodegradacija - biodegradation	
	95% u tekućem bujonu 95% in liquid microb broth	Fuchs i sur., 2008
<i>Phaffia rhodozyma</i>	90%/15 dana - days /20°C	Peteri i sur., 2007
<i>Trichosporon mycotoxinivorans</i>	30% OTA→OT α /48h u bujonu - in microb broth	Molnar i sur., 2004
<i>Rhizopus</i> sp.	95%/ 16 dana u YES bujonu - in microb broth	Varga i sur., 2005
<i>Aspergillus niger</i>	100% OTA→OT α /7 dana u YES bujonu - days in YES mic. broth	Varga i sur., 2000

adsorbens koji bi uspješno eliminirao oba toksina. Hidratizirani natrijevi i kalcijevi alumosilikati i gline slabo adsorbiraju OTA i ZEA. Jedino se modifikacijom montmorilonita (glina) povećava adsorpcija ZEA s 0,19 na 108 mg/g. S druge strane, smola kolestiramin i bentonit bolje adsorbiraju OTA (9,6 i 1,5-9 mg/g) nego ZEA (oko 0,3 i 0,11 mg/g). Zadovoljavajuće rezultate u adsorpciji ZEA daje glukomanan

(77%) koji ujedno ne uklanja vitamine i minerale. Međutim, ovaj biološki adsorbent znatno manje veže OTA (12,5%). Aktivni ugljen je za sada najdjelotvorniji adsorbent za većinu mikotoksina pa tako i za OTA i ZEA (100%). Međutim, primjena ovog adsorbenta ima nekoliko nedostataka uključujući eliminaciju nutritivnih elemenata, onečišćenje krmiva, životinja i štala te još uvijek visoku cijenu (Galvano i sur., 2001).

Tablica 3. Dekontaminacija i biodegradacija OTA (preuzeto iz Zinedine i sur., 2007)

Table 3. Decontamination and biodegradation of OZA (from Zinedine et al, 2007)

Metode - Methods	Učinak - Effect
Fizikalne metode- Physical methods	
Adsorbenti - adsorbents	adsorpcija - adsorption
hidratizirani natrijevi i kalcijevi alumosilikati hydratized sodium and calcium alumosilicates	0,5%
bentonit - bentons	0,11 mg/g
sepiolit - sepiolite	0,07 mg/g
montmorilonit - montmorilonite	0,19 mg/g
modificirani montmorilonit - modified montmorilonite	108 mg/g
kolestiramin - cholestiramine	> 0,3 mg/g
aktivni ugljen - active coal	100% (pH 3 i 7,3)
glukomanan - glucomanane	oko 80%
Termička obrada - Thermal treatment	degradacija - degradation
kuhanje - cooking	83%
Kemijske metode - Chemical methods	degradacija
ozon - ozone	100%
10% vodikov peroksid/80°C/16h - 10% hydrogen peroxyde/80 °C/16h	83,9%
Biološke metode - Biological methods	biodegradacija - biodegradation
miješane bakterijske kulture - mixed bacteria cultures	100%
laktobacili - lactobacilli	68-75%/4 dana fermentacije kukuruza 68-75%/4 days maize fermentation
<i>Trichosporon mycotoxinivorans</i>	degradacija ZEA u CO ₂ i netoksične metabolite ZEA degradation in CO ₂ and nontoxic metabolites
<i>Gliocladium roseum</i>	metabolizira 80-90% ZEA u netoksične produkte metabolizes 80-90% of ZEA in nontoxic products

Tablica 4. Najveće dopuštene koncentracije OTA i ZEA u žitaricama i krmivu prema zakonskoj regulativi EU i Hrvatske

Table 4. Highest permitted concentrations of OTA and ZEA in cereals and feeda cording to regulations in Croatia

Hrana - Food	Mikotoksin Mycotoxins	MDK µg/kg jestivog dijela* - edible part* mg/kg**
Žitarice i proizvodi od žitarica za direktnu konzumaciju ili ugradnju u proizvod Cereals and cereal products for direct consumption or incorporation into a product	OTA	3,0*
Žitarice osim kukuruza uključujući heljdu i rižu prije sortiranja ili fizikalne obrade Cereals except maize including buckwheat and rice before sorting and physical treatment	OTA	5,0*
Kukuruz prije sortiranja ili fizikalne obrade Maize before sorting and physical treatment	OTA	5,0*
Dječja hrana i proizvodi na bazi žitarica za dojenčad i malu djecu Food for children and products based on cereals for babies and young children	OTA	0,5*
Kukuruz, kukuruzno brašno, proizvodi od žitarica Maize, maize flour, cereal products	ZEA	200*
Krmivo - Feed		
Žitarice i proizvodi od žitarica - Cereals and cereal products	OTA	0,25**
Dopunske i potpune krmne smjese za svinje Supplementary and complete feed mixtures for pigs	OTA	0,05**
Dopunske i potpune krmne smjese za perad Supplementary and complete feed mixtures for poultry	OTA	0,1**
Žitarice i proizvodi od žitarica, osim nusproizvoda kukuruza Cereals and cereal products except maize byproducts	ZEA	2**
Nusproizvodi kukuruza - Maize byproducts	ZEA	3**
Dopunske i potpune krmne smjese za prasade i prvopraskinje Supplementary and complete feed mixtures for pigs and primiparous sows	ZEA	0,1**
Dopunske i potpune krmne smjese za krmače i tovljenike Supplementary and complete feed mixtures for sows and porkers	ZEA	0,25**
Dopunske i potpune krmne smjese za telad, mliječne krave, ovce (uključujući janjad), koze (uključujući jarad) Supplementary and complete feed mixtures for calves, dairy cows, sheep (including lambs), goats (including kids)	ZEA	0,5**

Od kemijskih načina dekontaminacije OTA jedino je učinkovito tretiranje s amonijakom i kalcij hidroksidom (90-100%), dok su se u degradaciji ZEA uspješnima pokazali ozon (100%) i vodikov peroksid (83,9%).

U posljednje vrijeme sve se više ispituje mogućnost primjene različitih mikroorganizama koji svojim enzimima mogu razgraditi mikotoksine u manje toksične produkte. U *in vitro* pokusima biodegradacije OTA i ZEA, obećavajući rezultati su dobiveni

za laktobacile (68-95%), plijesni iz roda *Rhizopus* (95-100%), *Aspergillus* (100% OTA) i *Gliocladium roseum* (80-90% ZEA) te kvasce *Phaffia rhodozyma* i *Trichosporon mycotoxinivorans*. Biodegradacijom se uglavnom OTA prevodi u netoksični OT α , dok *Aspergillus niger* razgrađuje i nastali OT α (Varga i sur., 2000).

S obzirom da nema univerzalnog fizikalnog, kemijskog ili biološkog postupka koji bi uklonio većinu mikotoksina iz krmiva, a da pri tom ne utječe na nutritivnu vrijednost hrane i/ili ne poskupljuje proizvodnju, prevencija kontaminacije mikotoksina je od primarne važnosti.

LEGISLATIVA

Zemlje članice EU su nedavno uskladile zakonsku regulativu o maksimalnim dopuštenim koncentracijama mikotoksina (MDK) u hrani za životinje i ljude (EC/576/2006) i EC/1881/2006). U žitaricama i njihovim prerađevinama namijenjenim ljudskoj prehrani MDK za OTA i ZEA kreću se od 0,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, odnosno 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (dječja hrana) do 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, odnosno 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (neprerađene žitarice). U krmivu su najveće dopuštene koncentracije između 0,05 i 0,25 mg/kg za OTA te između 0,1 i 3 mg/kg za ZEA. Hrvatska je uskladila zakonske propise o MDK mikotoksina u hrani i krmivu s legislativom koju je donijela EU (NN/16/2005 i NN/118/2007).

ZAKLJUČAK

Zadnjih godina, izuzevši 2004., učestalost OTA, ZEA i drugih mikotoksina u žitaricama i krmivu se smanjuje. Ova redukcija mikotoksinske kontaminacije uvjetovana je s jedne strane klimatskim promjenama tj. dužim sušnim razdobljima, a s druge strane pravovremenim ubiranjem i novijom tehnologijom skladištenja uroda. Iako je zbog toga smanjen rizik akutnih trovanja to ne isključuje kronični unos subtoksičnih koncentracija mikotoksina u organizam te njihov mogući toksinopatogeni sinergizam. Premda važeća zakonska regulativa propisuje MDK za OTA, ZEA i druge najčešće prisutne mikotoksine u hrani za ljude i životinje, ona ne uzima u obzir

moguće aditivne ili sinergističke interakcije ovih toksičnih metabolita plijesni.

LITERATURA

1. Balzer, I., C. Bogdanić, S. Mužić (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.
2. Creppy, E. E., P. Chirappa, I. Baudrimont, P. Borracci, S. Moukha, M.R. Carratu (2004): Synergistic effects of fumonisin B₁ and ochratoxin A: are *in vitro* cytotoxicity data predictive of *in vivo* acute toxicity?. *Toxicology*, 201:115-123.
3. Cvetnić, Z., S. Pepeljnjak, M. Šegvić (2005): Toxicogenic potential of *Fusarium* species isolated from non-harvested maize. *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* 56:275-280.
4. Dojin, R., L. B. Bullerman (1999): Effect of cycling temperatures on the production of deoxynivalenol and zearalenone by *Fusarium graminearum* NRRL 5883. *J. Food Prot.* 62:1451-1455.
5. Domijan, A-M., D. Željezić, N. Kopjar, M. Peraica (2006): Standard and Fpg-modified comet assay in kidney cells of ochratoxin A- and fumonisin B₁-treated rats. *Toxicology*, 222:53-59.
6. 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.
7. EC/1881/2006: Commission regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs.
8. EC/576/2006: Commission regulation (EC) No 576/2006 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.
9. Friis, C., R. Brinn, B. Hald (1988): Uptake of ochratoxin A by slices of pig kidney cortex. *Toxicology*, 52:209-217.
10. Fuchs, S., G. Sontag, R. Stidl, V. Ehrlich, M. Kundi, S. Knasmüller (2008): Detoxification of patulin and ochratoxin A, two abundant mycotoxins, by lactic acid bacteria. *Food Chem. Toxicol.* 46:1398-1407.
11. Galvano, F., A. Piva, A. Ritieni, G. Galvano (2001): Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: a review. *J Food Prot.* 64:120-131.

12. Huwig, A., S. Freimund, O. Käppeli H. Dutler (2001): Mycotoxin detoxification of animal feed by different adsorbents. *Toxicol. Lett.* 122:179–188.
13. 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. Lyon, Vol 56.
14. IARC (1999): Overall evaluations of carcinogenicity to humans. IARC Monographs. Vols 1-73:1-36.
15. JECFA (2000): Zearalenone. U: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (ur.), Safety evaluation of certain food additives and contaminants. WHO/FAO Food additives Series 44. IPCS – International Programme on Chemical Safety. WHO, Geneva.
16. JECFA (2001): Ochratoxin A. U: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (ur.), Safety evaluation of certain mycotoxins in food. WHO/FAO Food additives Series 47. IPCS – International Programme on Chemical Safety. WHO, Geneva.
17. Jurjević, Ž., M. Solfrizzo, B. Cvjetković, A. De Girolamo, A. Visconti (2002): Occurrence of beauvericin in corn from Croatia. *Food Technol Biotechnol.* 40:91-94.
18. Jurjević, Ž., M. Solfrizzo, B. Cvjetković, G. Avantiaggiato, A. Visconti (1999): Ochratoxin A and fumonisins (B₁ and B₂) in maize from Balkan nephropathy endemic and non endemic areas of Croatia. *Mycot. Res.* 15:67-80.
19. Korunić, Z. (ur.) Protection of stored agricultural products. Korunić Press, Zagreb, 51-64.
20. Kosalec, I., S. Pepeljnjak (2004): Najznačajniji mikotoksini i mikotoksikoze. *Praxis veterinaria*, 52:169-181.
21. Krogh, P. (1980): Causal association of mycotoxic nephropathy. *Medical Mycol. Zbl. Bakt. Suppl.* 8:291-299.
22. 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. *Veterinarska stanica*, 32:205-209.
23. Molnar, O., G. Schatzmayr, E. Fuchs, H. Prillinger (2004): *Trichosporon mycotoxinivorans* sp. nov., a new yeast species useful in biological detoxification of various mycotoxins. *System. Appl. Microbiol.* 27:661–671.
24. Müller, G., P. Kielstein, H. Rosner, A. Berndt, M. Heller, H. Kohler (1999): Studies of the influence of ochratoxin A on immune defence reactions in weaners. *Mycoses*, 42:495-505.
25. 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.
26. NN/118/2007: Narodne novine br.118/2007 od 15. studenog 2007, Pravilnik o nepoželjnim i zabranjenim tvarima u hrani za životinje.
27. NN/16/2005: Narodne novine br.16/2005 od 2. veljače 2005, Pravilnik o toksinima, metalima, metaloidima, te drugim štetnim tvarima koje se mogu nalaziti u hrani.
28. Ožegović, L., S. Pepeljnjak (1995): Mikotoksikoze, Školska knjiga, Zagreb.
29. Pepeljnjak, S. (2005): Toksinogene plijesni i mikotoksini u žitaricama i krmivima. Zbornik radova XII međunarodno savjetovanje «Krmiva 2005», str. 80-91.
30. 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.
31. Pepeljnjak, S., M. Šegvić (2004): An overview of mycotoxins and toxigenic fungi in Croatia. In: Logrieco, A., A. Visconti (ed.): An overview on toxigenic fungi and mycotoxins in Europe. Kluwer Academic Publishers, Dordrechr, pp. 33-50.
32. 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.
33. Pepeljnjak, S., S. Čuturić (1978): Review on the investigation of mycotoxins, *Vet Arh.* 48:33-35.
34. Pepeljnjak, S., S. Čuturić, S. Topolko, M. Munk (1979): Factors of mycotoxin conatmination of corn. *Krmiva*, XX-5:109-112.
35. 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.
36. Pepeljnjak, S., Z. Cvetnić (1985): The mycotoxicological chain and contamination of food by ochratoxin A in Yugoslavia. *Mycopathologia*, 90:147-153.
37. 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.
38. 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.
 39. Peraica, M., A-M. Domijan (2001): Contamination of food with mycotoxins and human health. Arh. Hig. Rada Toksikol. 52:23-35.
 40. Peraica, M., A-M. Domijan, M. Matašin, A. Lucić, B. Radić, F. Delaš, M. Horvat, I. Bosanac, M. Balija, D. Grgičević (2001): Variations of ochratoxin A concentration in the blood of healthy populations in some Croatian cities. Arch. Toxicol. 75:410-414.
 41. Peraica, M., A-M. Domijan, R. Fuchs, A. Lucić, B. Radić (1999): The occurrence of ochratoxin A in blood in general population of Croatia. Toxicol. Lett. 110:105-112.
 42. Peraica, M., A-M. Domijan, Ž. Jurjević, B. Cvjetković (2002): Prevention of exposure to mycotoxins from food and feed. Arh. Hig. Rada Toksikol. 53:229-237.
 43. Péteri, Z., J. Téren, C. Vágvölgyia, J. Varga (2007): Ochratoxin degradation and adsorption caused by astaxanthin-producing yeasts. Food Microbiol. 24:205-210.
 44. Petrik, J., T. Žanić-Grubišić, K. Barišić, S. Pepeljnjak, B. Radić, Ž. Ferenčić, I. Čepelak (2003): Apoptosis and oxidative stress induced by ochratoxin A in rat kidney. Arch. Toxicol. 77:685-693.
 45. Pfohl-Leszkowicz, A., M. Tozlovanu, R. Manderville, M. Peraica, M. Castegnaro, V. Stefanovic (2007): New molecular and field evidences for the implication of mycotoxins but not aristolochic acid in human nephropathy and urinary tract tumor. Mol. Nutr. Food Res. 51: 1131 – 1146.
 46. Pfohl-Leszkowicz, A., R. A. Manderville (2007): Ochratoxin A: an overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. Mol. Nutr. Food Res. 51:61 – 99.
 47. Pitt, J. I., J. C. Basílico, M. L. Abarca, C. Lopez (2000): Mycotoxins and toxigenic fungi. Med. Mycol. 38(Suppl 1):41-46.
 48. Puntarić, D., J. Bošnjir, Z. Šmit, I. Škes, Ž. Baklaić (2001): Ochratoxin A in Corn and Wheat: Geographical Association with Endemic Nephropathy. Croat. Med. J. 42:175-180.
 49. Radić, B., R. Fuchs, M. Peraica, A. Lucić (1997): Ochratoxin A in human sera in the area with endemic nephropathy in Croatia. Toxicol. Lett. 91:105-109.
 50. Richard, J. L. (2007): Some major mycotoxins and their mycotoxicoses-an overview. Int. J. Food Microbiol. 119:3-10.
 51. 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.
 52. Speijers, G. J. A., M. H. M. Speijers (2004): Combined toxic effects of mycotoxins. Toxicol. Lett. 153:91-98.
 53. Stoev, S. D., B. Hald, P. G. Mantle (1998): Porcine nephropathy in Bulgaria: A progressive syndrome complex of uncertain (mycotoxin) etiology. Veterinary Rec.142:190-194.
 54. Stoev, S. D., D. Goundasheva, T. Mirtcheva, P. Mantle (2000): Susceptibility to bacterial infections in growing pigs as an early response in ochratoxicosis. Exp. Toxicol. Pathol. 52:287-296.
 55. Stoev, S. D., H. Daskalov, B. Radić, A-M. Domijan, M. Peraica (2002): Spontaneous mycotoxic nephropathy in Bulgarian chickens with unclarified mycotoxin aetiology. Vet. Res. 33:83-93.
 56. Stoev, S. D., S. Vitanov, G. Anguelov, T. Petkova-Bocharova, E. E. Creppy (2001): Experimental mycotoxic nephropathy in pigs provoked by a diet containing ochratoxin A and penicillic acid. Vet. Res. Commun. 25:205-223.
 57. Szuetz, P., A. Mesterhazy, G. Y. Falkay, T. Bartyok (1997): Early telearche symptoms in children and their relations to zearalenone contamination in foodstuffs. Cereals Res. Commun. 25:429-436.
 58. 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.
 59. Šegvić Klarić, M., L. Rumora, D. Ljubanović, S. Pepeljnjak (2008): Cytotoxicity and apoptosis induced by fumonisin B1, beauvericin and ochratoxin A in porcine kidney PK15 cells: effects of individual and combined treatment. Arch. Toxicol. 82:247-255.
 60. Šegvić Klarić, M., S. Pepeljnjak, A-M. Domijan, J. Petrik (2007): Lipid peroxidation and glutathione levels in porcine kidney PK15 cells after individual and combined treatment with fumonisin B₁, beauvericin and ochratoxin A. Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. 100:157-164.
 61. Varga, J., K. Rigó, J. Téren (2000): Degradation of ochratoxin A by *Aspergillus* species. Int. J. Food Microbiol. 59:1-7.
 62. Varga, J., Z. Péteri, K. Tábori, J. Téren, C. Vágvölgyi (2005): Degradation of ochratoxin A and other

- mycotoxins by *Rhizopus* isolates. Int. J. Food Microbiol. 99:321-328.
63. Yiannikouris, A., J. P. Jouany (2002) Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. Anim. Res. 51:81-99.
64. Zinedine, A., J. M. Soriano, J. C. Moltó, J. Manes (2007): Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: an oestrogenic mycotoxin. Food Chem. Toxicol. 45:1-18.

SUMMARY

Mycotoxins are secondary metabolites produced by various mould species. Contamination of cereals and feeds with mycotoxins depends on distribution of toxigenic mould strains, micro-climate, harvesting techniques and storage conditions. Our research in the past 35 years shows that *Fusarium* sp. and *Penicillium* sp. dominated in the crops (40-60%). Consequently, ochratoxin A (OTA) and zearalenone (ZEA) were frequently found in cereals and feed. OTA is a nephrotoxin with a potential carcinogenic activity in humans and is connected with development of endemic nephropathy (EN). ZEA shows uterotrophic, estrogenic and anabolic activity in domestic animals and it has been implicated in hormonal interruption in humans. In the past three decades OTA and ZEA were detected in 20% and 30% of samples. High concentrations were found in extremely humid and/or cold years; in 1978 (68900 µg OTA/kg and 2758000 µg ZEA/kg), in 1980 (4700 µg OTA/kg), and in 2004 (29430 µg ZEA/kg) as well as during wartime in Croatia (3200 µg OTA/kg and 19900 µg ZEA/kg). In other years of sampling concentrations were between 0.26 and 220 µg/kg (OTA) and between 0.39 and 3000 µg/kg (ZEA). Recently, many reports were focused on mycotoxin co-contamination of crops, since they could produce synergistic toxic effects in animals and humans. In the past few years simultaneous occurrence of OTA and ZEA were detected in 37% and 13.5% of samples, respectively. However, levels of these toxins are significantly lower compared to previous sampling which is probably a consequence of relatively dry microclimatic conditions. Even low concentrations of mycotoxins reduce the risk of acute poisoning, chronic intake of subtoxic concentrations and their possible synergistic interactions could have an impact on biochemical and immunological functions in animals and humans.

Key words: ochratoxin A, zearalenone, health