

UDK: 636.085+661.183.1

Pregledni rad

MINAZEL PLUS - EFIKASNI ADSORBENT MIKOTOKSINA

*Magdalena Tomašević-Čanović, Aleksandra Daković, S. Matijašević,
Ana Radosavljević-Mihajlović, M. Adamović, D. Stojšić .*

Izvod: Pored visoke efikasnosti adsorpcije mikotoksina (aflatoksina, zearalenona, ohratoksina A i dr.), kao i inertnosti u odnosu na vitamine, aminokiseline i mikro elemente, Minazel Plus je stabilan u opsegu kiselosti od pH 1 do pH 10. Negativni efekti pri upotrebi Minazela Plus nisu se javili ni u ogleđima in vivo, što se i očekivalo obzirom na stabilnost organo kompleksa koja je utvrđena u in vitro uslovima.

Količina koja se preporučuje za preventivnu primenu je 0.2 % (2 kg/toni potpune krmne smeše), odnosi se na slučaj kada su mikotoksini prisutni u hrani do koncentracije duplo veće od gornje dozvoljene granice. U slučaju veće kontaminacije hrane sa mikotoksinima, tada se preporučuje dodavanje do 0.5 % (5 kg/toni). U tom slučaju ne javlja se ni u tragovima rezidue mikotoksina u bubregu, jetri i misićima, mada su životinje (jagnjad), dobijale hranu kontaminiranu mikotoksinima.

Ključne reči: mikotoksini, rezidue, adsorbenti, hemijska stabilnost, stočna hrana

Uvod

Mikotoksini, sekundarni metaboliti plesni, u organizam životinja i ljudi najčešće dospevaju putem kontaminirane hrane. Konzumiranje kontaminirane hrane sa niskim sadržajem mikotoksina tokom dužeg vremenskog perioda ima sličan efekat kao i korišćenje hrane sa povećanim sadržajem mikotoksina kraće vreme. Pored toga, čisti mikotoksini koji se koriste u ogleđima su često manje toksični nego prirodno sintetisani i inkorporirani u hranu. Poseban značaj na ispoljavanje štetnih i toksičnih efekata pojedinih toksina ima sinergistički efekat koji se ispoljava prisustvom više različitih mikotoksina u istom hranivu. Prisutni mikotoksini čak ne moraju da pripadaju istoj grupi: na primer zearalenon, aflatoksin i ohratoksin. Takođe, toksičnost pojedinih mikotoksina nije ista za sve vrste životinja, kao ni za sve uzraste iste vrste.

Dr Magdalena Tomašević-Čanović, naučni savetnik; dr Aleksandra Daković, naučni saradnik; Srđan Matijašević, dipl.fiz.hem., istraživač pripravnik; Ana Radosavljević-Mihajlović, dipl.ing.geo., istraživač pripravnik; dr Milan Adamović, naučni savetnik; ITNMS, Franše d' Epere 86, PO Box 390, Beograd Dragan Stojšić, stručni saradnik, Nacionalni Centar za kontrolu trovanja, VMA, Beograd

Među poznatim mikotoksinima, na našem podnevlju, ohratoksini, trihocetini, zearalenon, a u novije vreme i aflatoksini imaju medicinski nutritivni i ekonomski značaj.

Do sada najpoznatija metoda za dekontaminaciju stočne hrane zagađene mikotoksinima je zasnovana na korišćenju različitih adsorbentata koja se dodaju kao aditivi stočnoj hrani.

Adsorbenti su materijali koji imaju ulogu da brzo, efikasno i selektivno adsorbuju mikotoksine u digestivnom traktu životinja, a pri tom se ne resorbuju u organizmu životinja i ne ostavljaju rezidue u organima i tkivima. Kao adsorbenti za adsorpciju mikotoksina najčešće se primenjuju prirodni alumosilikati, i to zeoliti i bentoniti.

Zeoliti pripadaju grupi tektosilikata čiju osnovnu strukturu čini prostorna mreža delimično supstituisanih tetraedara, dok bentonite karakteriše slojevita struktura silicijumskih tetraedara vezanih koordinatnim slojevima aluminijuma i/ili magnezijuma. Kod obe grupe minerala usled izostrukturalne zamene četvorovalentnog silicijuma trovalentnim aluminijumom elementarna ćelija je negativno naelektrisana. Ovo negativno naelektrisanje je kompenzovano jednovalentnim i/ili dvovalentnim katjonima. Kod bentonita izmenljivi katjoni su smešteni u međuslojnom prostoru, dok kod zeolita se u najvećem delu nalaze u kanalima i šuplinama. U zavisnosti od prirode katjona oni mogu da adsorbuju vodu i da učestvuju u reakcijama jonske izmene. U prirodnom, neorganskom obliku bentoniti i zeoliti efikasno adsorbuju mikotoksine iz grupe aflatoksina.

Ostali mikotoksini (zearalenon, ohratoksin A i dr.) su molekuli slabije polarnosti, pa je za njihovu adsorpciju na adsorbentima neophodna prethodna modifikacija površine adsorbenta dugolančanim organskim katjonima. Pri tom, kod bentonita svi neorganski katjoni u međuslojnom prostoru su jednako dostupni za izmenu sa organskim katjonima, dok kod zeolita samo katjoni sa spoljašnje površine minerala mogu biti zamenjeni sa organskim katjonima. Dakle, kod bentonita ova izmena se može vršiti do punog kapaciteta katjonske izmene, dok kod zeolita do vrednosti spoljašnjeg kapaciteta katjonske izmene koji iznosi obično 10% od ukupnog kapaciteta. Upravo zbog niskog sadržaja organske faze koja je potrebna za delimičnu korekciju naelektrisanja površine, zeolitski minerali su daleko pogodniji od bentonita. Istovremeno sa delimičnom izmenom neorganskih katjona organskim, neorganski katjoni u kanalima zeolita ostaju dostupni za izmenu sa drugim neorganskim katjonima.

Istraživanja koja se obavljaju u Institutu za tehnologiju nuklearnih i drugih mineralnih sirovina (ITNMS) sa ciljem prevencije mikotoksikoza su zasnovana na prirodnom zeolitu kao polaznom materijalu.

Stabilnost organo mineralnog kompleksa

U predhodnim radovima je pokazano da je u ITNMS definisan tehnološki postupak i utvrđeni uslovi za dobijanje i proizvodnju novog tipa mineralnog adsorbenta mikotoksina površinskom modifikacijom prirodnog klinoptilolita sa organskim katjonom. Novi adsorbent - Minazel Plus je u ispitivanjima dao najbolje rezultate sa aspekta broja i vrste mikotoksina koji se na njemu adsorbuju. Pokazalo se da dobijeni adsorbent adsorbuje preko 94% zearalenona, 96% ohratoksina A, 99% aflatoksina, 82% T-2 toksina, >90% ergot alkaloida i 50% DAS.

U dosadašnjim rezultatima koji su prezentirani polazilo se od toga da sadržaj organske faze može da bude ograničavajući faktor za količinu adsorbenta koja se preporučuje za praktičnu primenu. Cilj ovog rada je bio da se preko ispitivanja hemijske stabilnosti organozeolitnog kompleksa, utvrde optimalne količine adsorbenta koje je potrebno dodati, u zavisnosti od količine prisutnih mikotoksina - zearalenona i ohratoksina A, bez pojave bilo kakvih negativnih efekata.

Hemijska stabilnost organozeolitnog kompleksa Minazela Plus je ispitivana na različitim pH na sledeći način: tačno određena količina uzorka (5 g) je stavljena u 100 ml elektrolita (pH 1, 7 i 10), na sobnoj temperaturi, uz kontinualno mešanje. Nakon kontakta (2 h) uzorci su profiltrirani i osušeni na 80 C. U filtratu je određivan slobodan amin, a promene stabilnosti organo kompleksa su praćene termičkim (DTA/TG) i IR analizama. Analize su pokazale da promena pH sredine nije izazvala nikakve promene na termičkim i IR dijagramima organo-zeolita. Takođe, u elektrolitu nakon kontakta nije detektovana slobodna organska faza. Dobijeni rezultati ukazuju da je organozeolitni kompleks stabilan u širokom opsegu pH10. Negativni efekti pri upotrebi Minazela Plus nisu se javili ni u ogleđima in vivo, što se i očekivalo obzirom na stabilnost organo kompleksa koja je utvrđena u in vitro uslovima.

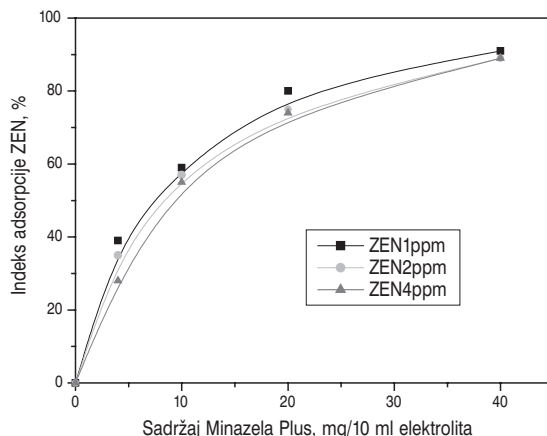
Određivanje dodatka optimalne količina Minazela Plus za adsorpciju mikotoksina

Da bi se utvrdila optimalna količina adsorbenta Minazela Plus zavisno od prisutne količine mikotoksina - zearalenona i ohratoksina A izvršena su ispitivanja adsorpcije ovih toksina pri različitim odnosima toksin : adsorbent.

Urađene su serije eksperimenata praćenja adsorpcije različitih polaznih koncentracija zearalenona - 1ppm, 2ppm i 4 ppm. Svako seriji je dodavano adsorbenta od 4 mg/10 ml elektrolita, do 40 mg/10ml.

Dobijeni rezultati su prikazani grafički na Slici 1.

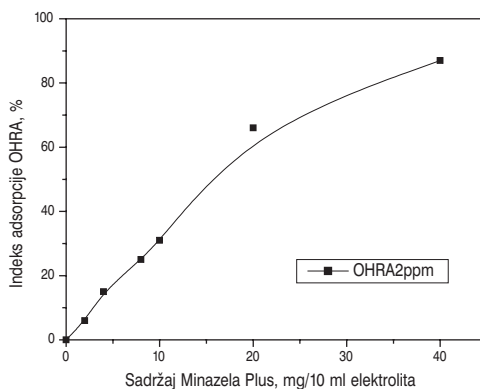
Slika 1. Adsorpcija zearalenona (1 ppm, 2 ppm, 4 ppm), u zavisnosti od dodate količine Minazela Plus



Sa slike 1 može se videti da pri količini zearalenona 1 ppm sa dodatkom 4 mg adsorbenta /10ml elektrolita, indeks adsorpcije iznosi 39%, dok sa 40 mg adsorbenta u 10 ml elektrolita indeks adsorpcije iznosi 91%. Povećanjem polazne količine zearalenona na 4 ppm, sa 4 mg adsorbenta u 10 ml elektrolita indeks adsorpcije zearalenona iznosi 28%, dok sa 40 mg adsorbenta u 10 ml elektrolita indeks adsorpcije iznosi 89%. Slične vrednosti indeksa adsorpcije su postignuti kako sa količinom toksina 1 ppm tako i sa količinom od 4 ppm, dok do značajnog povećanja indeksa adsorpcije dolazi sa povećanjem sadržaja adsorbenata.

Sa ohratoksinom A, urađena je jedna serija eksperimenata, sa 2 ppm, uz dodatak iste količine adsorbenta kao i kod zearalenona (4, 10, 20 i 40 mg/10 ml elektrolita). Rezultati su dati na slici 2.

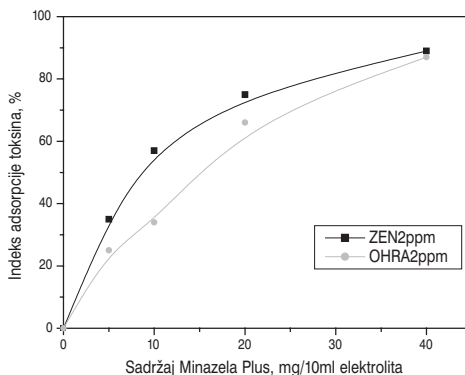
Slika 2: Adsorpcija ohratoksina A (2 ppm), u zavisnosti od dodate količine Minazela Plus



Sa slike 2 se vidi da se sa povećanjem prisustva adsorbenta povećava stepen adsorpcije ohratoksina, slično kao i kod zearalenona.

Radi upoređenja, na slici 3 su date zavisnosti stepena adsorpcije oba mikotoksina (2 ppm), u zavisnosti od dodate količine Minazela Plus.

Slika 3: Adsorpcija zearalenona (2 ppm) i ohratoksina A (2 ppm), u zavisnosti od dodate količine Minazela Plus



Sa Slike 3 se može videti da se sa povećanjem količina mineralnog adsorbenta Minazela Plus povećava adsorpcija kako zearalenona tako i ohratoksina A. Pri istoj polaznoj koncentraciji oba toksina (2 ppm) sa 4 mg adsorbenta/10ml elektrolita indeks adsorpcije zearalenona iznosi 35%, a ohratoksina A 15%. Povećanjem sadržaja adsorbenta na 40 mg/10ml elektrolita, indeks adsorpcije zearalenona iznosi 89% a ohratoksina A 77%.

Dobijeni rezultati ukazuju da za preventivno dodavanje mineralnog adsorbenta Minazela Plus u hranu u količini od 0,2%, a kada je toksin (zearalenon i/ili ohratoksin A) prisutan u količini do 2 ppm (2 mg/kg) hrane, adsorbent će efikasno adsorbovati prisutne toksine. Zbog toga za preventivno dodavanje Minazela Plus u hranu preporučujemo količinu od 0,2% adsorbenta (2 g/kg hrane).

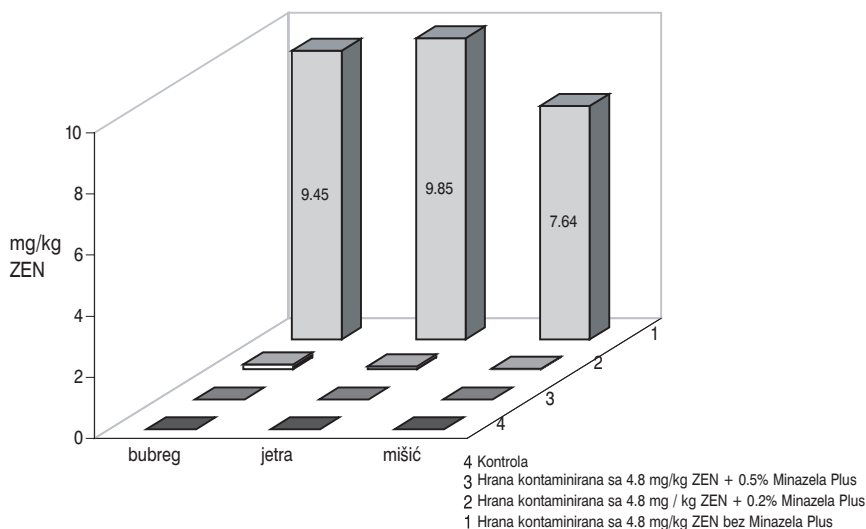
Ukoliko je hrana kontaminirana sa više od 3 mg/kg bilo zearalenona ili ohratoksina A, preporučujemo da se adsorbent dodaje u količini do 0,5% (5 g/kg hrane). U tom slučaju se povećava efikasnost adsorpcije toksina, bez bojazni da će doći do negativnih efekata.

Efekti primene Minazela Plus u oglecima in vivo

In vivo eksperimenti efikasnosti primene mineralnog adsorbenta Minazela Plus su proteklih godina bili predmet izučavanja brojnih istraživača. Stojković je utvrdio da korišćenje Minazela Plus u obrocima jagnjadi koji su sadržavali kukuruz kontaminiran zearalenonom (4,8 mg/kg), imalo je pozitivan uticaj na prirast, iskorišćavanje hrane, randman jagnjadi i sprečavanje deponovanja rezidua zearalenona u organima. Minazel Plus je dodavan u količinama od 0,2 i 0,5%. Rezidue zearalenona su praćene u bubregu, jetri i mišićima (D. Stojšić, Toksikoloski centar VMA nepublikovani rezultati)

Zbirni rezultati ovog oglada, koji se odnose na rezidue zearalenona, su prikazani na slici 4.

Slika 4: Sadržaj zearalenona u organima zavisno od dodatka Minazela Plus



Iz ovih rezultata (slika 4) se vidi da pri količini od 0,2% adsorbenta u ispitivanim organima jagnjadi prisutne su male količine zaostalog zearalenona, dok pri količini od 0,5% adsorbenta nema deponovanja zearalenona u ispitivanim organima.

Na svinjama je izvršen veliki broj ogleda. U svim ogledima su praćeni ekonomski parametri proizvodnje, putem praćenja prirasta, zdravstvenog stanja, konverzije hrane i drugih parametara. Na žalost, nisu određivani sadržaji rezidua mikotoksina u organima. Svi praćeni parametri jasno pokazuju visoku efikasnost primene Minazela Plus u proizvodnji svinja svih uzrasta, kada one konzumiraju hranu zagađenu zearalenonom. Ovde ćemo navesti samo neke primere.

Na farmi svinja „Vidović“ početkom 2001 godine radala su se prasadi sa znacima vulvovaginitisa, što je ukazivalo da je hrana za suprasne krmače bila kontaminirana zearalenonom. Mikotoksikološka analiza hrane pokazala je da su u hrani prisutni sledeći mikotoksini: zearalenon - 4.84 mg/kg, aflatoksini - 0.0032 mg/kg i ohratoksin A - 0.030mg/kg. Rezultati primene Minazela Plus u količini od 0.2% kod krmača u laktaciji, prasadi u odgoju od 7 do 25 kg i tovnih svinja od 25 do 100 kg na ovoj farmi prikazane su u tabelama 1, 2 i 3.

Tab. 1. Efekti primene Minazela Plus (0.2%) kod krmača u laktaciji

Proizvodni rezultati	Kontrola	Ogled	Indeks O/K,%
Oprašeno prasadi po leglu	10,81	11,54	106,75
Prosečna telesna težina (kg)	1,20	1,35	112,50
Prosečna završna telesna težina (kg)	7,90	8,20	103,79
Ostvaren prirast po HD-u sa 28 dana	0,239	0,244	102,09
Zalučeno prasadi po krmači	10,45	11,18	106,98

Tab. 2. Efekti primene Minazela Plus (0.2%) kod prasadi u odgoju (7-25kg)

Proizvodni rezultati	Kontrola	Ogled	Indeks O/K, %
Prosečna završna telesna težina (kg)	24,80	26,80	108,06
Ostvaren prirast po HD-u (kg)	0,352	0,388	110,22
Konverzija hrane (kg)	2,39	2,05	85,77

Tab. 3. Efekti primene Minazela Plus (0.2%) kod tovnih svinja (25-100kg)

Proizvodni rezultati	Kontrola	Ogled	Indeks O/K, %
Prosečna završna telesna težina (kg)	102,00	106,30	104,21
Ostvaren prirast po HD-u (kg)	0,772	0,795	102,92
Konverzija hrane (kg)	2,86	2,78	97,20

Na osnovu ovih ogleda mogu se izvesti sledeći zaključci:

- krmače koje su preko hrane konzumirale Minazel Plus su već posle 45 dana prasile prasadi bez vulvovaginitisa, dok je broj živo oprašene prasadi u oglednoj grupi bio viši za 6,75% i broj avitalnih prasadi u oglednoj grupi bio viši 25%.

- kod prasadi u odgoju prirast po HD-u bio je veći u oglednoj grupi za 10,22%, dok je konverzija hrane bila manja za 14,23%.

- kod tovnih svinja prirast po HD-u bio je veći za 3% u oglednoj grupi, dok je konverzija hrane bila manja za 2,8%.

Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je Minazel Plus efikasan adsorbent mikotoksina, da poseduje hemijsku stabilnost u opsegu od pH 1 do pH 10, i da kao takvom nije ograničena količina koja se može dodati u stočnu hranu. Pošto je efikasnost adsorpcije mikotoksina veća kada je prisustvo adsorbenta veće, količina koja se preporučuje za primenu iznosi 0,2 % (2 kg/toni) adsorbenta u potpune krmne smeše, preventivno i za slučaj kada je hrana manje kontaminirana mikotoksinima (duplo više od gornje dozvoljene granice). Kada se radi o veoma kontaminiranoj hrani tada je potrebno povećati količinu adsorbenta do 0,5 %.

Literatura

1. Lopez-Garsia R., Park D. L., Phillips T. D. (1999): Integrated mycotoxin management system, Food Nutrition and Agriculture, 23, 38-48.
2. Ožegović L., Pepelnjak S. (1995): Mikotoksikoze, Školska knjiga, Zagreb.
3. Sinovec Z., Palić T., Ivetić V. (2000): Značaj mikotoksikoza u veterinarskoj medicini, II Savetovanje iz kliničke patologije i terapije životinja, 167-177, Budva.
4. Phillips T. D., Saar B. A., Grant P. G. (1995): Selective Chemisorption and Detoxification of aflatoxins by Phyllosilicate Clay. Natural Toxins, 3, 204-213.
5. Tomašević-Čanović Magdalena, Dumić M., Vukićević Olivera, Radošević P., Rajić I., Palić T. (1994): The adsorption effects of mineral adsorber on the clinoptilolite basis; Part I Adsorption of aflatoxins B1 and G2. Acta veterinaria, 44, 5-6, 309-318.
6. Lemke S. L., Grant P. G., Phillips T. D. (1998): Adsorption of Zearalenone by Organophylic Montmorillonite Clay, J. Agric. Food Chem., 46, 3789-3796.
7. A. S. Daković, M. R. Tomasevic-Canovic, V. T. Dondur, D. G. Stojsic, G. E. Rottinghaus, (2001): In vitro adsorption of zearalenone by octadecyldimethylbenzyl ammonium-exchanged clinoptilolite-heulandite tuff and bentonite in A. Galarneau, F. Di Renzo, F. Fajula, J. Vedrına (Eds.), Zeolites and Mesoporous Materials at the Dawn of the 21st Century, Stud. Surf. Sci. Catal. 135, Proc. 13th International Zeolite Conference, Montpellier, France, 8-13 July 2001, Elsevier, 5276.
8. Magdalena Tomašević-Čanović, M. Dumić, Olivera Vukićević, Aleksandra Daković, S. Milošević, Đ. Avakumović, I. Rajić: Organski modifikovani klinoptilolitsko hejlanditski tuf, organomineralni adsorbent mikotoksina - postupak za proizvodnju i primenu, Patent P-838/00
9. Magdalena Tomašević-Čanović, Aleksandra Daković, Olivera Vukićević, M. Adamović, Aleksandra Bočarov-Stančić, G. Rottinghaus (2001): Površinski modifikovani klinoptilolit - novi efikasni adsorbent mikotoksina, XV Savetovanje veterinara, stočara i agrara, Padinska Skela.
10. Magdalena Tomašević-Čanović, Aleksandra Daković, G. Rottinghaus, S. Matijašević, Mirjana Đuričić: Surfactant modified zeolites-new efficient adsorbents for mycotoxins, Microporous and Mesoporous Materials in press.

11. Stojković M. (2001): Uticaj zeolita (Minazel Plus) u obroku na važnije proizvodne rezultate tovne jagnjadi, Izveštaj o radu Inst. PKB Agroekonomik, Pad. Skela.
12. Avakumović Đ., Rajić I., Marijaš J., Vukićević Olivera, Tomašević-Čanović Magdalena (2000): Efikasnost redukcije štetnih efekata mikotoksina prisutnih na farmama svinja primenom novog mineralnog adsorbenta mikotoksina Min-a-zeal Plus, III Simpozijum „Uzgoj i zaštita zdravlja svinja“, Vršac, 155-156.
13. Avakumović Đ., Rajić I., Vidović V., Daković A., Tomašević-Čanović M. (2002): Effects of dietary inclusion of organo-zeolite on production results of different categories of swine consumed feed contaminated with zearalenone, Zeolite 02, 6th International Conference on the Occurrence, Properties and Utilization of Natural Zeolites, Thessaloniki, 31-32.

UDC: 636.085+661.183.1

Review paper

MINAZEL PLUS - THE EFFICIENT ADSORBENT FOR MYCOTOXINS

*Magdalena Tomašević-Čanović, Aleksandra Daković, S. Matijašević,
Ana Radosavljević-Mihajlović, M. Adamović, D. Stojšić**

Summary

Besides high efficiency for adsorption of mycotoxins (aflatoxins, zearalenone, ochratoxin A etc.) as well as inactivity for adsorption of vitamins, aminoacids and microelements, Minazel Plus is stable in the range from pH 1 to pH 10. Consumption of Minazel Plus in in vivo conditions caused no negative effects in animals. Based on the high chemical stability of organozeolite complex those results are expected.

For preventive application of Minazel Plus, when diet contain mycotoxins in amounts twice that permitted, addition of 0.2% (2 g/kg feed) of Minazel Plus is recommended. However, the addition of 0.5% (5 g/kg) is recommended when diet contain much higher amounts of mycotoxins. In that case, even feed contain mycotoxins, residues of mycotoxins in kidney, liver or muscles of lambs can not be found.

Key words: mycotoxins, residues, adsorbents, chemical stability, animal feed.

* Magdalena Tomašević-Čanović, Ph.D., Aleksandra Daković, Ph.D, Srdan Matijašević, B.Sc., Ana Radosavljević-Mihajlović, B.Sc., Milan Adamović, Ph.D, ITNMS, Franše d' Epere 86, PO Box 390, Belgrade, Dragan Stojšić, National center for control of intoxication. Yugoslavia.