Project No. 18-01

CONSERVERING VAN COPRODUCTEN
Mycotoxinen van *Penicillium roqueforti* in bietenperspulpkuilen

Projectleider: M. Kaemmerer

1. Inleiding

In het kader van de voedselveiligheid en het kwaliteitsbeleid in de diervoeding zijn er normen gesteld aan mycotoxinegehalten in de rantsoenen voor rundvee, varkens en pluimvee. De gestelde normen gelden voor deoxynivalenol, zearalenon en ochratoxine. Dit zijn toxinen die vooral door veldschimmels (o.a. fusariumsoorten) geproduceerd worden. Als deze in het ingekuilde product voorkomen, zijn ze meestal reeds gevormd tijdens de groeifase. Hoewel er qua concentraties in de bietenpulpproducten weinig gegevens voorhanden zijn, wordt verwacht dat de concentraties van deze toxinen in perspulp en pulpbrokken nihil zijn. Echter, in ingekuild ruwvoer en door fermentatie geconserveerde natte coproducten, waaronder perspulp, kunnen mycotoxinen vormende kuilschimmels voorkomen. Deze ontstaan als zuurstof tijdens het inkuilproces beschikbaar blijft. *Penicillium roqueforti* is in kuilen een regelmatig, maar in zeer lage concentraties, voorkomende schimmel die bij sterke uitgroei blauwgroene bollen in de kuil vormt. De toxinen die deze schimmel kan produceren, zijn roquefortine C, penicillinezuur, mycofenolzuur en patuline. In beschimmelde gras- en maïskuilen is roquefortine C aangetoond en van patuline is bekend dat het instabiel is in een zure omgeving. Verder is er geen informatie over eventuele vorming en aanwezigheid van *P. roqueforti*-mycotoxinen in perspulpkuilen. Meer inzicht hierin is van belang voor de kwaliteitsaspecten van de pulp, zeker als deze aan varkens gevoerd wordt.

2. Werkwijze

Uit perspulpkuilen uit project 18-01 uit 2001 zijn een aantal monsters genomen van zichtbaar en niet zichtbaar beschimmelde delen van de kuil. Deze zijn door de vakgroep Veterinaire Toxicologie van de RUU onderzocht op *P. roqueforti* en op de potentie van toxinevorming door de geïsoleerde stammen. Tevens zijn ter vergelijking monsters van kuilgras en mengvoer meegenomen in dit onderzoek. Van deze monsters is een primaire schimmelkweek gemaakt op een MEA-medium. Vervolgens heeft op wederom een MEA-medium verdere isolatie van *P. roqueforti* plaatsgevonden. De geïsoleerde kolonies zijn vervolgens geënt op verschillende media (MYSA, MEA en MEA-lactaatplaten) om de invloed van het substraat op de vorming van mycotoxinen na te gaan. De hierop ontstane schimmelkolonies zijn vervolgens met behulp van chloroform op een schudapparaat geëxtraheerd. Na filtratie van het extract over Whatmann-papierfilter werd het extract ingedampt onder stikstofgas. In dit ingedampte extract werden vervolgens de gevormde mycotoxinen bepaald door middel van HPLC.

3. Resultaten

In tabel 1 zijn de gemiddelde hoeveelheden patuline, penicillinezuur, mycofenolzuur en roquefortine C die gevormd zijn per cm^3 in de drie verschillende media, gegeven. De *P. roqueforti* geïsoleerd uit bietenpulpkuilen, graskuil en mengvoer zijn alle in staat de genoemde toxinen te vormen. De potentie van deze vorming hangt echter af van de genetische variant van de *P. roqueforti* en het substraat waarop deze groeit. In deze proef werd door de uit bietenpulp geïsoleerde stammen vooral penicillinezuur en mycofenolzuur gevormd. De hoogste productie werd gevonden op het zure MEA-lactaatmedium. Op het neutrale MEA-medium was de penicillinezuurproductie door de geïsoleerde stammen uit bietenpulp hoger dan die uit kuilgras en mengvoer. Op het MEA-lactaat was de productie door stammen uit kuilgras het hoogst. De mycofenolzuurproductie door stammen uit bietenpulp was gelijk of lager dan de productie door stammen uit mengvoer of kuilgras. Voor patuline en roquefortine C hebben de geïsoleerde stammen uit bietenpulp geen hogere potentie tot vorming van deze toxinen dan geïsoleerde schimmels uit kuilgras en mengvoer.

Tabel 1. Potentie van toxineproductie door stammen van *P. roqueforti* uit bietenperspulpkuilen, graskuil en mengvoer (n = 3). Toxinevorming (µg/cm^3 medium).

toxine	voer	MYSA		MEA		MEA-lactaat	
patuline	bietenperspulp	0,08	(± 0,07)	0,28	(± 0,40)	0,26	(± 0,41)
	kuilgras	0,06		0,05		0,46	(± 0,90)
	mengvoer	0,06	(± 0,02)	0,18	(± 0,17)	0,22	(± 0,28)
penecillinezuur	bietenperspulp	0,35	(± 0,44)	1,23	(± 2,06)	1,84	(± 3,09)
	kuilgras	0,16		0,16		3,77	(± 3,23)
	mengvoer	0,36	(± 0,33)	0,09	(± 0,10)	0,45	(± 0,70)
mycofenolzuur	bietenperspulp	0,55	(± 0,89)	0,54	(± 0,91)	2,53	(± 2,61)
	kuilgras	0,14		3,96		2,40	(± 2,04)
	mengvoer	1,49	(± 2,09)	1,87	(± 2,40)	3,40	(± 5,40)
Roquefortine C.	bietenperspulp	0,11	(± 0,09)	0,20	(± 0,17)	0,05	(± 0,09)
	kuilgras	0,34		0,34		0,01	(± 0,004)
	mengvoer	0,26	(± 0,13)	0,20	(± 0,24)	0,32	(± 0,07)

[1] MYSA = Malt Yeast Sucrose Agar.
[2] MEA = Malt Extract Agar.

4. Conclusie

De uit bietenpulp geïsoleerde stammen van *P. roqueforti* zijn in staat mycotoxinen te vormen. De mate van vorming en de typen toxinen die gevormd worden, zijn echter sterk afhankelijk van de aanwezige genetische variant en van de samenstelling van het substraat waarop de schimmel zich bevindt. Een zuur milieu remt de toxineproductie niet. Het geeft eerder aanleiding tot stimulatie van de vorming van penicille- en mycofenolzuur.

De algemene potentie tot mycotoxinevorming door stammen in bietenperspulp is echter niet significant hoger dan bij de isolaten uit kuilgras en mengvoer. Dus in dit opzicht onderscheidt bietenperspulp zich niet van andere veel gebruikte voedermiddelen. Aangezien nooit aangetoond is dat mycotoxinen zich in een kuil verspreiden en dat door de producent duidelijke inkuilinstructies worden verstrekt, waarin ook afgeraden wordt eventueel beschimmelde delen te vervoederen, is het risico van een mycotoxinevergiftiging vrijwel nihil.