



Autoklivering af ochratoksin A- og citrininholdig byg til slagtesvin

*Arne Madsen og H. P. Mortensen
Afdelingen for forsøg med svin og heste
B. Hald*

*Institut for veterinær mikrobiologi og hygiejne, KVL
F. Elling*

Patologisk-Anatomisk Institut, Københavns Universitet

Et bygparti, der indeholdt 1900 μg ochratoksin A (OA) og 800 μg citrinin pr. kg, blev autoklaveret ved 132°C i ½ time. Autoklaveringen medførte, at indholdet af OA reduceredes til 300 μg pr. kg byg, mens citrinin ikke kunne påvises. Et toksinfrit bygparti behandlede på tilsvarende måde. De 4 bygpartier blev givet som eneste kornart i perioden 50–90 kg. Ved autoklaveringen faldt byggens indhold af tilgængeligt lysin, hvorfor der kompenseredes ved at give tilskud af sojaskrå til to af bygholdene.

Autoklaveringen af den toksinfrie byg reducerede den daglige tilvækst og øgede foderforbruget pr. kg tilvækst med ca. 5%.

Grisene på den toksinholdige byg mistede hurtigt ædelysten og drak meget vand. Den daglige tilvækst reduceredes fra 777 til 514 g, og foderforbruget pr. kg tilvækst steg fra 3,41 til 5,41 i perioden 50–90 kg. Ved fodring med den toksinholdige byg, der var autoklaveret, plus ekstra proteintilskud steg den daglige tilvækst til 543 g, og foderforbruget pr. kg tilvækst faldt til 4,86.

Nyrerne indeholdt 67 og 55 μg OA pr. kg hos grisene, der fik toksinholdig byg henholdsvis ubehandlet og autoklaveret, hvorfor samtlige grise måtte kasseres. Hos grisene på den ubehandlede byg blev der også påvist citrinin i nyrerne.

De sværeste nyreforandringer sås hos grisene på den stærkt toksinholdige byg, mens autoklaveringen af dette bygparti medførte en nedsættelse af nyreskadernes omfang.

Indledning

Som tidligere omtalt kan byg med et for højt vandindhold angribes af svampe, der bl.a. producerer OA og citrinin. Der er tidligere gjort forsøg på at afgifte ochratoksinholdig byg. I 296. Meddelelse er omtalt et forsøg, hvor den ochratoksin-

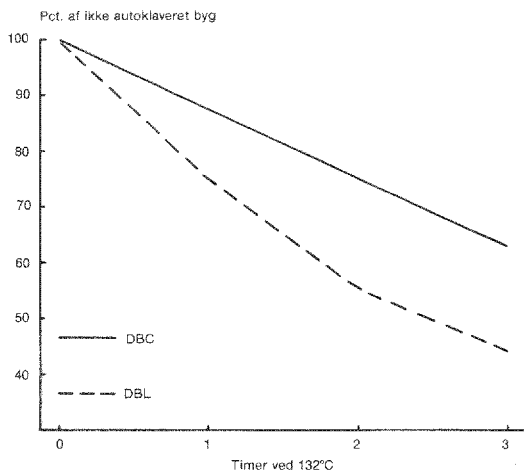
holdige byg blev tilsat 5% flydende ammoniak og behandlet i 4 døgn ved 70°C. I et andet forsøg blev den kontaminerede byg opvarmet i en tromletør-rer til 100–110°C og derefter tilsat 0,5% natriumhydroxid (362. Meddelelse). Begge forsøg viste, at det lykkedes at reducere byggens toksinind-

hold, men dog ikke tilstrækkeligt til at de anførte metoder har kunnet anbefales i praksis. Der blev derfor iværksat et forsøg med en tredje afgiftningsmetode, hvor formålet var at afgifte den ochratoksinholdige byg ved autoklavering.

Materiale og metoder

Autoklavering af byg

Forsøg med autoklavering af fiskemel har vist, at tilgængeligheden af lysin falder, jo længere tid opvarmningen varer. Der blev derfor udført en undersøgelse for at finde den optimale behandlingstid. Figur 1 viser, at DBL (mængden af tilgængelig lysin, målt ved farvebindingsmetoden) falder stærkere end DBC (mængden af tilgængelig lysin, histidin og arginin). På baggrund af de opnåede resultater besluttedes det at opvarme den toksinholdige byg til 132°C i en halv time, hvorved faldet i DBL og DBC er henholdsvis ca. 10 og 5 pct.



Figur 1. Opvarmningstidens indflydelse på byggens indhold af tilgængelige aminosyrer.

De autoklaverede bygpartier blev fremstillede i forsøgstiden, efterhånden som de skulle anvendes, og der blev behandlet 50 kg byg ad gangen. Efter ca. 35 minutter i autoklaven var temperaturen oppe på 100°C og ca. 15 minutter senere på 132°C (2 ato). Denne temperatur opretholdtes i 30 minutter. Ved denne behandling optog byggen ca. 5 kg vand. Den nævnte portion blev derpå bredt ud i et 40–50 cm tykt lag på en perforeret plade og gennemblæst med kold luft, indtil vægten atter var 50 kg.

Forsøgsplan

Forsøgsplanen fremgår af tabel 1.

Tabel 1. Forsøgsplan

Hold	1	2	3	4	5
20–50 kg	(Normal byg)		
50–90 kg:					
Normal byg	+	+	+	–	–
Toksinholdig byg	–	–	–	+	+
Autoklavering af byggen	–	+	+	–	+
Pct. sojaskrå i foderet	12	12	15	12	15

Samtlige fem hold fik samme foderblanding i perioden 20–50 kg. I perioden 50–90 kg fik hold 4 og 5 den normale byg ombyttet med byg, der indeholdt såvel OA som citrinin.

Byggen til hold 2, 3 og 5 blev autoklaveret. Da autoklaveringen reducerede lysinindholdet, blev der givet ekstra tilskud af sojaskrå til hold 3 og 5, hvorved den fordøjelige lysinmængde pr. FES skulle blive som til hold 1. Da der var en begrænset mængde toksinholdig byg til rådighed, kunne der ikke blive autoklaveret byg til to hold, som det var tilfældet med den toksinfrie byg.

Ved sidste aftenfodring samt ved morgenfodringen på slagtedagen blev der givet sund byg til alle fem hold.

Analyse af fodermidlerne

Resultaterne af den kemiske analyse er anført i tabel 2.

Mængden af lysin og cystin er reduceret med over 20 pct. og af treonin og methionin med ca. 10 pct. Byggens indhold af OA er faldet fra 1947 til 300 µg pr. kg, mens der ikke kunne påvises citrinin efter autoklaveringen.

Prøver udtaget ved slagting

Grisene er leveret ved en levendevægt af 90 kg og slagtet under el-bedøvning. Fra grisene på hold 1, 4 og 5 blev der udtaget prøver af nyre, lever, mørbrad og flomme til toksinanalyse. OA og citrinin er bestemt ved tyndtlagskromatografi. Nyrene er vurderet makroskopisk, fotograferet og vejet. Endvidere blev der udtaget prøver til histologiske undersøgelser.

Tabel 2. Fodermidlernes sammensætning

Fodemiddel	Normal byg		Toksinholdig byg		Sojaskrå
	-	+	-	+	-
Autoklaveret					
Pct. vand	13,2	13,4	12,5	13,2	12,6
<i>Pct. af tørstof:</i>					
Råprotein	13,0	12,6	12,9	12,5	47,6
Råfedt	2,1	2,1	2,1	1,9	1,9
NFE	76,9	77,6	77,3	77,8	34,0
Træstof	5,4	5,3	5,2	5,4	9,6
Aske	2,6	2,4	2,5	2,4	6,9
<i>g aminosyre pr. kg tørstof:</i>					
Lysin	4,5	3,4	4,1	3,1	29,5
Treonin	4,2	3,9	4,2	3,8	18,7
Methionin	2,2	2,0	2,3	2,0	7,2
Cystin	2,7	2,1	2,8	2,2	7,3
FES pr. kg tørstof	1,17	1,17	1,17	1,17	1,29
µg ochratoksin A pr. kg	0	0	1947	300	0
µg citrinin pr. kg	0	0	840	0	0

Forsøgets forløb

Grisene på hold 4 og 5 vægrede sig ved at fortære den toksinholdige foderblanding. Ligesom i tidligere forsøg øgede de store mængder OA drikkelysten og urinudskillelsen. Hos en gris på hold 4 gik tilvæksten næsten i stå kort tid før, den gik over på den toksinholdige foderblanding. Efter en måned på denne havde den kun vokset 5 kg, hvorfor det besluttedes at aflive den. Ved obduktion fandtes: »Hyperkeratose i ventriklens hvide del. Der var fibrøs perihepatitis begrænset til en enkelt leverlap. Ved den bakteriologiske undersøgelse blev patogene bakterier ikke isoleret« (K. B. Pedersen, Statens veterinære Serumlaboratorium).

Resultater

Tilvækst, foderforbrug og slagtekvantitet

De vigtigste resultater fremgår af tabel 3. Indtil 50 kg voksede holdene ret ensartet. De fortærede i gennemsnit 1,6 FEs daglig, voksede 624 g pr. dag og havde et foderforbrug på 2,5 FEs pr. kg tilvækst.

Den daglige tilvækst reduceres fra 777 til 514 g, og foderforbruget pr. kg tilvækst steg fra 3,41 til 5,41 ved ombytning af den normale byg med den toksinholdige byg. Autoklaveret af den normale

Tabel 3. Tilvækst, foderforbrug og restkoncentrationer

Hold	1	2	3	4	5
<i>50-90 kg:</i>					
Byggen autoklaveret	-	+	+	-	+
µg OA/kg foder	0	0	0	1665	247
µg citrinin/kg foder	0	0	0	718	0
Antal galte	10	10	10	10 ¹	10
<i>20-50 kg:</i>					
FES pr. gris daglig	1,58	1,59	1,60	1,59	1,56
Daglig tilvækst, g	624	634	638	604	620
FES pr. kg tilvækst	2,54	2,51	2,50	2,63	2,52
<i>50-90 kg:</i>					
FES pr. gris daglig	2,65	2,65	2,66	2,78	2,64
l vand pr. kg foder	-	-	-	5,7	4,9
Daglig tilvækst, g	777	739	756	514	543
FES pr. kg tilvækst	3,41	3,59	3,52	5,41	4,86
g ford. prot./FES	120	117	125	118	125
g ford. lysin/FES	5,4	4,7	5,3	5,1	5,2
<i>20-90 kg:²⁾</i>					
FES pr. gris daglig	2,10	2,15	2,15	2,24	2,20
Daglig tilvækst, g	703	683	700	546	573
FES pr. kg tilvækst	3,00	3,15	3,08	4,21	3,88
Antal foderdage	101	104	101	132	124
Foderblanding, kg	211	221	214	293	272
Foderblanding, FES	212	222	216	297	274
Afregningsvægt, kg	63,8	64,1	63,7	63,5	64,9
Pct. kød (KSA)	51,7	50,1	51,3	52,4	52,2
Kasserede slagtekroppe	0	0	0	9	10
Nyrernes vægt, g	130	-	-	193	169
<i>Ochratoksin A, µg/kg:</i>					
Nyre	0,6	-	-	67	55
Kød	0	-	-	34	29
Lever	0	-	-	25	24
Flomme	0	-	-	17	16

¹⁾ 1 gris aflivet ved 55 kg.

²⁾ Korrigeret til 64 kg afregningsvægt.

byg reducerede den daglige tilvækst og øgede foderforbruget med ca. 5 pct. (hold 2). Tilskud af ekstra sojaskrå til hold 3 havde en positiv indflydelse. Autoklaveret af den toksinholdige byg forøgede tilsyneladende byggens foderværdi lidt, men grisene på hold 5 voksede dog kun 543 g daglig, mens de på hold 3 havde en daglig tilvækst på 756 g. Køndindholdet var signifikant lavere for hold 2 end for de øvrige hold.

Ochratoksin A i organer og væv

Som tidligere nævnt er der ved slagtning udtaget prøver af grisene på hold 1, 4 og 5 til bestem-

melse af restkoncentrationer. Resultaterne viser, at to grise på hold 1 indeholdt henholdsvis 4,8 og 1,5 μg OA pr. kg nyre, mens der ikke er påvist OA i kød, lever og flomme. Derimod viser tabel 3, at hold 4 og 5 indeholdt store toksinmængder, og aftagende i rækkefølgen: Nyrer, kød, lever og fedt. Der var en tendens til, at hold 5 på den autoklaverede byg havde et mindre indhold af OA end hold 4. Der blev fundet citrinin i nyrerne hos grisene på hold 4, men ikke på hold 5.

Histologiske undersøgelser af nyrerne

Resultatet af den histologiske undersøgelse fremgår af tabel 4.

Tabel 4. Antal grise med nyreforandringer

Hold	1	4	5
	a-b	a-b	a-b
Ingen forandringer	9-8		1-1
Lette forandringer	1-1	3-1	4-3
Svære forandringer		3-5	3-2
Meget svære forandringer		4-4	2-2

a = makroskopiske, b = mikroskopiske forandringer.

- Hold 1) Der forelå i alt ni dyr til histologisk undersøgelse, hvor de otte var mikroskopisk normale, mens et dyr viste ganske let focal tubulus atrofi med tilsvarende let peritubulær fibrose.
- Hold 4) Fire dyr viste ret diffust udbredt tilbagedannelse af nyrebarkens tubuli med udtalt bindevævsdannelse mellem de tilbagedannede tubuli. Fem dyr havde mere pletvis tilbagedannelse af tubuli med tilsvarende lettere bindevævsdannelse, mens et dyr havde ganske lette skader.
- Hold 5) To dyr viste svære beskadigelser i mange områder i nyrebarken i form af tilbagedannelse af tubuli og fibrose. To dyr havde samme type beskadigelser, men i få områder af nyrebarken, mens tre dyr viste ganske let tubulær tilbagedannelse med tilsvarende let bindevævsdannelse. Et dyr havde mikroskopisk normale nyrer.

Tabel 4 viser, at der var god overensstemmelse mellem de makro- og mikroskopiske undersøgelser.

Diskussion

Det må naturligvis være målet at benytte sådanne høst- og opbevaringsmetoder, at toksindannelse kan undgås i kornet. Imidlertid må man indstille sig på, at der fortsat vil forekomme bygpartier, som indeholder toksin. Der er derfor behov for at udvikle effektive afgiftningsmetoder. Som nævnt i indledningen har tidligere forsøg vist, at OA kan reduceres ved opvarmning og samtidig tilsætning af ammoniak eller natriumhydroxid; men restkoncentrationerne i organer og væv var dog for høje til, at disse to metoder kan anvendes i praksis.

I nærværende forsøg var det ikke muligt at påvise citrinin efter autoklavering ved 132°C i ½ time, og indholdet af OA er reduceret med 85 pct. Grisene på den toksinholdige byg (hold 4) mistede ligesom i tidligere forsøg ædelysten og drak mere vand end normalt. Den daglige tilvækst reduceredes med godt 30 pct., og foderforbruget pr. kg tilvækst steg med ca. 60 pct. i perioden 50-90 kg. Autoklavering af byggen reducerede imidlertid indholdet af tilgængelige aminosyrer. Figur 1 viser, at DBL og DBC falder henholdsvis 18 og 12 pct. pr. time i autoklaven. For lang tids ophold i autoklaven vil således nedsætte bygens proteinværdi betydeligt. Denne virkning blev der kompenseret for ved at give tre procentenheder mere sojaskrå til hold 3 og 5 end til de øvrige hold. Autoklaveringen af den normale byg (hold 1) reducerede den daglige tilvækst med ca. 5 pct. (hold 2). Forudsætter man samme nedgang ved autoklavering af den toksinholdige byg, skulle hold 5 have vokset ca. 500 g daglig. Tilvæksten har imidlertid været 10 pct. større, hvilket sandsynligvis kan tilskrives, at den autoklaverede byg ikke indeholdt citrinin, ligesom ochratoksinindholdet var reduceret med 85 pct. Imidlertid var nyrernes indhold kun reduceret med ca. 20 pct., hvorfor de opnåede forbedringer har været for små til at få praktisk betydning. Samtlige grise på hold 5 er ligesom på hold 4 kasseret, fordi nyrerne indeholdt over 25 μg OA pr. kg.