

Alkaloidy sporyszu – substancje niepożądane w paszach i materiałach paszowych

Aleksandra Grelik, Krzysztof Kwiatek

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Higieny Pasz,
al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; elksandra.grelik@piwet.pulawy.pl

Alkaloidy sporyszu są miktotoksynami wytwarzanymi przez grzyby wszystkich gatunków z rodzaju *Claviceps*, przede wszystkim przez buławinkę czerwoną (*C. purpurea*), które pasozytują kwiatostany roślin w okresie ich rozwoju i kwitnienia. Do grupy alkaloidów sporyszu zalicza się m.in.: ergotaminę, ergometrynę, ergokorninę, ergozynę, ergokryptynę oraz ergokrystynę, a także ich izomery. Celem niniejszej pracy jest podsumowanie najbardziej istotnych i aktualnych informacji na temat alkaloidów sporyszu. Dotyczy to informacji na temat ich występowania, toksyczności, właściwości chemicznych, ustawowych limitów, metod oznaczania i ich znaczenia w paszach (Crews, 2015).

Źródła alkaloidów

Nazwa sporysz pochodzi od starofrancuskiego słowa argot, czyli „kogucia ostroga”. Terminem tym określa się formy przetrwalnikowe grzybów z gatunku *Claviceps*, rozwijające się zamiast ziaren na kłosach zboża lub zamiast nasion w kwiatostanach traw. Przetrwalniki te zawierają różne rodzaje alkaloidów, z których najważniejsze to: ergometryna, ergotamina, ergozyna, ergokrystyna, ergokryptyna i ergokornina oraz ich epimery. Ilość i proporcje toksyn różnią się u poszczególnych szczepów grzybów w zależności od rośliny żywicielskiej i regionu geograficznego. Przetrwalniki to ciemnobrązowe, łukowato wygięte twory, powstałe z przekształconego ziarna, wielkości nawet do 4 cm, grubości około 4 mm i o pobrażonej powierzchni (ryc. 1). Wielkość przetrwalników może różnić się w zależności od warunków środowiskowych, a także gatunku atakowanego zboża. Największe przetrwalniki

występują w kłosach żyta, mniejsze – rzadziej spotykane – w kłosach pszenicy, pszenżyta i jęczmienia. Zwiększoną ilość porażen zbóż buławinką czerwoną obserwuje się w latach o cieplej, deszczowej pogodzie. Przed lub w czasie żniw przetrwalniki spadają na ziemię i pozostają nienaruszone w okresie zimowym oraz podczas przechowywania ziarna (Walczak i Kwiatek, 2015).

Porażenia są najbardziej rozpowszechnione w życie i pszenżycie, gdyż mają one otwarte różyczki, ale także pszenica i inne zboża o mniejszych ziarnach są potencjalnymi gospodarzami tych gatunków grzybów. Ostatnio zanieczyszczenie sporyszem zaobserwowano na sorgo (Molloy i in., 2003). Odkryto, że powoduje je *Claviceps africana*. Gatunki sorgo, głównie *Sorgo bicolor*, są ważnym elementem produkcji żywności i pasz w Afryce, Ameryce Środkowej i Azji Południowej. W sorgo zarodniki *Claviceps* kiełkują i rosną do niezapłodnionych nasion, produkując tym samym przetrwalniki. Innymi ważnymi źródłami alkaloidów są porażone trawy, na przykład wysoka kostrzewa (*Festuca arundinacea*) zakażona *Claviceps* spp. lub *Acremonium coenophialum*. Mimo że grzyby są głównym źródłem alkaloidów sporyszu, są one również syntetyzowane przez niektóre rośliny, zwłaszcza z rodziny powojowatych.

Toksyczność

Najstarsze zapisy świadczące o użyciu alkaloidów sporyszu pochodzą ze starożytnej Grecji i mówią o wykorzystaniu ich jako środka psychoaktywnego – powodującego halucynacje. Zapisy o zatruciach i chorobach „pochodzących od ziaren” można również znaleźć w Starym Testamencie (850–550 p.n.e.). W 370 r. p.n.e. Hi-

pokrates opisał wpływ sporyszu na hamowanie krwawień poporodowych. Najszerzej opisane i najpoważniejsze skutki zanieczyszczeń ziaren sporyszem przytacza literatura średniowieczna. Zatrucia określano mianem „ognia Świętego Antoniego”, „wewnętrzny ogień” lub „świętego ognia”. W późniejszych czasach nadano im miano ergotyizmu. Najczęściej opisywanymi objawami były: intensywny ból wynikający ze zwężenia naczyń krwionośnych, zgorzele z utratą palców rąk, stóp, a nawet całych kończyn. Inne objawy zatrucia alkaloidami sporyszu obejmują: bóle brzucha, wymioty, uczucie pieczenia skóry, bezsenność i halucynacje.

W nowej erze w latach 944–945 opisano

śmierć 20 tys. osób z regionu Akwitanii we Francji, które zmarły z objawami „świętego ognia”. W XVI w. opisano występowanie zatruc na terenie Niemiec po spożyciu zanieczyszczonej sporyszem mąki żytniej. Zatrucia ludzi miały także miejsce w Indiach i Etiopii.

W dzisiejszych czasach ergotyizm praktycznie wyeliminowano jako chorobę u ludzi, ale pozostaje ważnym problemem weterynaryjnym, szczególnie u bydła, koni, owiec, świń i kurczaków. Dostępne są wyniki badań prowadzonych na różnych grupach zwierząt, zarówno w Europie jak i Stanach Zjednoczonych oraz wyniki badań zwierząt, które uległy zatruciom (Strickland i in., 2011).



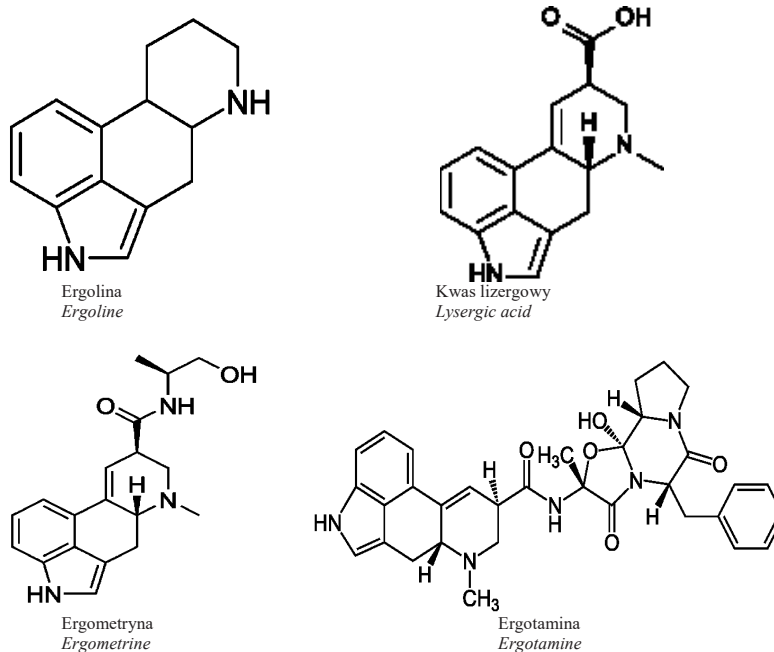
Ryc. 1. Przetrwalniki sporyszu w zebranym ziarnie oraz kłosach zboża (www.rynek-rolny.pl)

Fig. 1. Ergot sclerotia in harvested grain and in grain ears (www.rynek-rolny.pl)

Zatrucie sporyszem u przeżuwaczy ma zwykle charakter przewlekły, co jest skutkiem przyjmowania niewielkich dawek toksyn zawartych w pasożytujących trawy grzybach. Problem najczęściej pojawia się na obszarach, na których kostrzewa jest dominującym gatunkiem traw. Pierwsze objawy to zazwyczaj: biegunka, kulawizna, sztywność stawów, wychłodzenie, brak wrażliwości kończyn oraz spadek przyrostu masy ciała. Sucha zgorzel pojawia się później, obejmując kończyny, uszy i ogon zwierzęcia. Znane są przypadki zatrucia bawołów wodnych w Wielkiej Brytanii, którego źródłem była kiszonka z traw (Millar i in., 2010). Odnotowano 10 przypadków u wolno żyjących łosi i saren w Norwegii, w których głównymi objawami były: sucha zgorzel, utrata części kończyny lub otwarte zmiany (Handeland i Vikøren, 2005). Drób wydaje się być odporny na wyższe poziomy sporyszu niż inne zwierzęta. Jednak, karmienie paszą z wysoką zawartością przetrwalników sporyszu przez dłuższy czas może spowodować: utratę apetytu, zwiększone pragnienie, biegunkę, wymioty, osłabienie, drgawki, zgorzel grzebienia, paraliż i śmierć. Opisano również przypadki zatruc u koni, których

głównym objawem były zaburzenia równowagi. Jeden z nich dotyczył źrebiąt z objawami ataksji kończyn po spożyciu zainfekowanej paszy, a drugi klaczy z niedowładem kończyn po wypasie w kanale nawadniającym. Dwóch z pięciu zwierząt nie udało się uratować (Cawdell-Smith i in., 2010). Nie pojawiły się przypadki zatruc świń, królików, psów, kotów ani ryb. Badania na różnych grupach zwierząt pomogły wskazać poziom bez obserwowanego skutku negatywnego dla poszczególnych ich gatunków.

Jak dotąd, nie ma zbyt wielu informacji na temat metabolizmu alkaloidów sporyszu, chociaż wiadomo, że jako alkaloidy peptydowe są bardzo aktywne fizjologicznie. Zanikają one szybko we krwi i tkankach o wysokim współczynnikiem oczyszczania. W obwodowym układzie nerwowym alkaloidy te oddziałują na receptory serotoninowe, dopaminergiczne i alfa-adrenergiczne. W ośrodkowym układzie nerwowym alkaloidy sporyszu wykazują działanie sympatykolityczne. Na podstawie opisanych efektów biologicznych znaleziono również zastosowania alkaloidów sporyszu do celów medycznych już na początku XIX w.



Ryc. 2. Struktura przykładowych alkaloidów występujących w sporyszu (Krska i Crews, 2008)
 Fig. 2. Structure of exemplary alkaloids found in ergot (Krska and Crews, 2008)

Ich korzystne działanie farmakologiczne stymuluje badania nad związkami sporyszu i lekami naturalnymi oraz półsyntetycznymi, które zostały z nich wytworzone.

Lista efektów farmakologicznych obejmuje: hamowanie prolaktyny, leczenie parkinsonizmu i stymulację macicy. Ergotamina, na przykład, została po raz pierwszy użyta w leczeniu migreny w 1926 r. i jest nadal stosowana przez pacjentów (EFSA, 2012; Flieger i in., 1997; Schiff, 2006).

Właściwości chemiczne

W latach dwudziestych XX w. ergotamina, jako pierwszy alkaloid opisany w literaturze, została wyizolowana ze sporyszu i wykorzystywana do celów leczniczych, m.in. w ginekologii do hamowania krwotoku poporodowego. Od tego czasu odkryto i oznaczono różnymi metodami około 50 alkaloidów sporyszu. Są to związki o charakterze zasadowym, zawierające azot. Są pochodnymi dwóch kwasów: lizergowego i izolizergowego, których wspólnym elementem jest czteropierścieniowy związek nazywany ergoliną. Kwasy te są izomerami optycznymi i różnią się jedynie położeniem grupy karboksylowej przy 8. atomie węgla (ryc. 2). Istnienie izomerów optycznych lewo- i prawoskrętnych jest bardzo ważne z punktu widzenia zarówno analitycznego, jak aktywności biologicznej. Izomery lewoskrętne posiadają zdecydowanie silniejsze działanie biologiczne niż ich prawoskrętne odpowiedniki. Różnice w budowie przekładają się również na nazewnictwo tych związków. Izomery lewoskrętne mają nazwy kończące się na „ina”, a odpowiedniki prawoskrętne – „inina” (np. ergotamina i ergotaminina). Wszystkie izomery lewoskrętne mają swoje odpowiedniki prawoskrętne i mogą w roztworach ulegać epimeryzacji, czyli przekształceniu się w swoje odpowiedniki.

Alkaloidy sporyszu możemy podzielić na kilka grup ze względu na ich budowę i właściwości. Alkaloidy niskocząsteczkowe są amidami kwasu lizergowego (lub izolizergowego) i aminoalkoholi. Ergometryna (ergobazyna, ergonowina) jest amidem 2-aminopropanolu i kwasu D(-)lizergowego, a ergometrynina (ergobazynina) kwasu izolizergowego. Do grupy tej należą jeszcze metyloergometryna i metyzergid oraz ich izomery prawoskrętne.

Ergometryna (α -hydroksy- β -metyloetyloamid kwasu D(-)lizergowego) należy do alkaloidów niskocząsteczkowych, rozpuszczalnych w wodzie. Stosowana jest w leczeniu pod postacią wodoromaleinianu ergometryny. Wykazuje silny wpływ kurczący na macicę, wywołuje fale rytmicznych skurczów, zwiększa napięcie jej ścian. Wykorzystywana jest w położnictwie w celu wzmożenia skurczów porodowych i w ostatnim okresie porodu po oddzieleniu się łożyska. Hamuje wydzielanie prolaktyny, nie wykazuje działania sympatykolitycznego.

Alkaloidy wysokocząsteczkowe są oligopeptydami zbudowanymi z pierścienia składającego się z 3 aminokwasów, połączonego z kwasem lizergowym. Są one trudno rozpuszczalne i wysokotoksyczne. Możemy wyróżnić wśród nich trzy grupy, a mianowicie: ergotaminy (ergotamina, ergotyna, ergozyna), ergotoksyny (ergotoksyna, ergokryptyna, ergokrystyna) i alkaloidy klawinowe (ergoklawina, peniklawina, chanoklawina).

Ergotamina zbudowana jest z kwasu D(-)lizergowego i fragmentu peptydowego złożonego z α -hydroksyalaniny, L-feniloalaniny, L-proliny. W leczeniu stosowana jest w postaci winianu. Działa skurczowo na mięśnie gładkie macicy, porażająco na układ współczulny (sympatykolityk), blokuje receptory α -adrenergiczne, zwiększa napięcie ścian naczyń mózgowych i obwodowych. Jest stosowana w ginekologii oraz przy napadach migreny. Działanie naczyniowo-skurczowe jest na tyle duże, że może doprowadzić do bólów wieńcowych, drętwienia kończyn, niedokrwienia palców. W większych dawkach wykazuje działanie toksyczne. Przy zatruciu stosuje się atropinę i nitroglicerynę. Pochodna ergotaminy – 9,10-dihydroergotamina działa przeciwmigrenowo, nie działa natomiast kurcząco na macicę i jest mniej toksyczna. Ergotyna wywołuje natomiast skurcze macicy, dlatego też stosuje się ją jako środek poronny (Crews, 2015).

Ergokrystyna i ergokryptyna. Pomimo budowy podobnej do alkaloidów z grupy ergotaminy, związki te oraz ich syntetyczne pochodne wykazują odmienne działanie. Powodują zahamowanie w przednim płacie przysadki mózgowej produkcji hormonu prolaktyny, odpowiedzialnego za laktację. Same ergokrystyna i ergokryptyna nie są stosowane w leczeniu, ponieważ ich

pochodne są znacznie bezpieczniejsze i działają lepiej niż naturalne alkaloidy, np. 2-bromo- α -kryptyna poza leczeniem hiperprolaktynemii jest stosowana w znoszeniu objawów choroby Parkinsona – stymuluje receptory dopaminowe (Flieger, 1997; Krska i Crews, 2008).

Regulacje prawne

Pomimo zróżnicowanej ilości sumarycznej i różnej aktywności biologicznej poszczególnych alkaloidów nie sprecyzowano sumarycznej zawartości ani zawartości pojedynczych związków w ziarnie. Określono jedynie zawartość wagową sklerocjów sporyszu w ziarnach zbóż. Jest to odpowiednio 0,05% wagowego (500 mg/kg) w zbożu przeznaczonym do konsumpcji oraz 0,1% wagowego (1000 mg/kg) w paszach. Często jednak zgodność z najwyższym dopuszczalnym poziomem przetrwalników buławinki czerwonej niekoniecznie gwarantuje bezpieczeństwo żywności w odniesieniu do obecności alkaloidów sporyszu. W regulacjach prawnych obowiązujących od 2015 r. określono grupową ostrą dawkę referencyjną w wysokości 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ masy ciała i grupowe tolerowane dzienne pobranie w wysokości 0,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ masy ciała (Rozporządzenie (WE) nr 178/2002, OJ L 31/1 28.1.2002; Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 1881/2006, Dz.U. L 364/5 z 20.12.2006; Rozporządzenie Komisji (UE) 2015/1940, Dz.U. L 283/3 z 29.10.2015).

Metody badania

Sumaryczną zawartość alkaloidów sporyszu można oznaczyć za pomocą metod kolorymetrycznych, wykorzystujących reakcje barwne alkaloidów z odpowiednimi odczynnikami. Po naświetleniu światłem ultrafioletowym większość alkaloidów wykazuje właściwość fluorescencji, co może być wykorzystane do wykrywania obecności oraz analizy ilościowej metodą chromatografii cienkowarstwowej (TLC) oraz wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC).

Wadą tych wszystkich metod jest jednak ich niespecyficzność. Nie pozwalają one określić, które konkretnie alkaloidy znajdują się w badanej próbce (Ochodzki i in., 2015). Atrakcyjnym rozwiązaniem dla skryningu alkaloidów sporyszu w uprawach rolnych i mące z pełnego ziarna wydawała się być technika ELISA, ale uznano za trudną do zidentyfikowania toksynę znakującą stopień zanieczyszczenia oraz możliwość występowania reakcji krzyżowych dla różnych grup alkaloidów sporyszu (Krska i Crews, 2008).

Obecnie rozwijane są metody chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS, LC-MS/MS), które pozwalają na oznaczenie ilościowe oraz identyfikację poszczególnych alkaloidów zawartych w badanej próbce. Próbkami do badań nie stanowią już tylko przetrwalniki czy nieprzetworzone ziarna zbóż, ale również pasze, mąki, produkty spożywcze (Bryła i in., 2015).

Skutki działania alkaloidów sporyszu udokumentowano już kilkaset lat temu. Ze względu na rosnącą świadomość i postęp w technologii czyszczenia ziarna ryzyko dla zdrowia ludzkiego jest coraz niższe. Niemniej jednak, nadal istnieje potencjalna możliwość wniknięcia alkaloidów sporyszu do łańcucha żywnościowego. Toksyczność sporyszu ma znaczący wpływ na wydajność i zdrowotne skutki dla wszystkich gatunków zwierząt gospodarskich, a zatem przemysł musi wziąć pod uwagę możliwe strategie w celu zmniejszenia ogólnego zanieczyszczenia ziarna sporyszem. Dla badań przesiewowych pasz są obecnie dostępne dokładne metody analityczne, jednak nie zawsze są one wystarczająco szybkie, aby mogły być wdrożone do rutynowej kontroli. Konieczne jest zatem rozwijanie metod badawczych, które pomogą rozszerzyć naszą wiedzę o chorobach powodowanych występowaniem alkaloidów w paszach, a szczególnie w obszarach dotyczących poziomów tolerancji i innowacyjnego podejścia w celu zminimalizowania ich toksyczności.

Literatura

- Bryła M., Szymczyk K., Jędrzejczak R., Roszko M. (2015). Determination of ergot alkaloids in grain products. *Food Technol. Biotechnol.*, 53 (1): 18–28.
- Cawdell-Smith A.J., Scrivener C.J., Bryden W.L. (2010). Staggers in horses grazing paspalum infected with *Claviceps paspali*. *Austral. Vet. J.*, 88: 393–395.

- Crews C. (2015). Analysis of ergot alkaloids, *Toxins*, 7: 2024–2050.
- Dyrektywa 2002/32/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 7 maja 2002 r. w sprawie niepożądanych substancji w paszach zwierzęcych.
- Flieger M., Wurst M., Shelby R. (1997). Ergot alkaloids – sources, structures and analytical methods. *Folia Microbiol.*, 42 (1): 3–30.
- Handeland K., Vikøren T. (2005). Presumptive gangrenous ergotism in free-living moose and a roe deer. *J. Wildlife Dis.*, 41: 636–642.
- Krska R., Crews C. (2008). Significance, chemistry and determination of ergot alkaloids: a review. *Food Additives & Contaminants, Part A*, 25, 6: 722–731.
- Millar M., Smith R. May P. (2010). Ergot poisoning of water buffaloes in the UK. *The Vet. Rec.*, 166: 28–29.
- Molloy J.B., Moore C.J., Bruyeres A.G., Murray S.A., Blaney B.J. (2003). Determination of dihydroergosine in sorghum ergot using an immunoassay. *J. Agricult. Food Chem.*, 51: 3916–3919.
- Ochodzki P. i in. (2015). Zapobieganie zagrożeniom związanym z występowaniem w ziarnie zbóż alkaloidów pasożytniczego grzyba buławinki czerwonej (sporysz). Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin-PIB, Radzików.
- Panel EFSA ds. środków trujących w łańcuchu żywnościowym (CONTAM); opinia naukowa dotycząca występowania alkaloidów sporyszu w żywności i paszach. *Dziennik EFSA*, 2012, 10 (7): 2798. Dostępny na stronie internetowej; www.efsa.europa.eu/efsajournal
- Rozporządzenie (WE) nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności (OJ L 31/1 28.1.2002).
- Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 1881/2006 z 19.12.2006 ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych (zastępuje rozporządzenie (WE) nr 466/2001; Dz.U. L 364/5 z 20.12.2006).
- Rozporządzenie Komisji (UE) 2015/1940 z dnia 28 października 2015 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 w odniesieniu do najwyższych dopuszczalnych poziomów przetrwalników buławinki czerwonej w niektórych nieprzetworzonych zbożach oraz w odniesieniu do przepisów dotyczących monitorowania i sprawozdawczości (Dz.U. L 283/3 z 29.10.2015).
- Schiff P.L. Jr. (2006). Ergot and its alkaloids. *Am. J. Pharm. Educ.*, 70 (5): 98.
- Strickland J.R., Looper M.L., Matthews J.C., Rosenkrans C.F.J., Flythe M.D., Brown K.R. (2011). Board-invited review: St. Anthony's Fire in livestock: causes, mechanisms, and potential solutions. *J. Anim. Sci.*, 89: 1603–1626.
- Walczak M., Kwiatek K. (2015). Sporysz jako źródło niebezpiecznych alkaloidów zbożowych materiałach żywnościowych i paszowych, *Życie Weter.*, 90 (4); 242–243.

ERGOT ALKALOIDS – UNDESIRABLE SUBSTANCES IN FEED AND FEED MATERIALS

Summary

Ergot alkaloids are mycotoxins produced by fungi of all species of the genus *Claviceps*, mainly by *C. purpurea*, which parasitize the seed heads of living plants during flowering. The group of ergot alkaloids are: ergotamine, ergometrine, ergocornine, ergosine, ergocryptine and ergocristine, and their isomers. The aim of this paper is to summarize the most relevant and timely information on ergot alkaloids. This also applies to information on their occurrence, toxicity, chemical properties, the statutory limits and their importance in animal feed.

Key words: ergot alkaloids, grain, feed, feed materials