

Slutlig rapport

# Jämförelse mellan fodermedlens toxikologiska egenskaper och potential för mögeltillväxt i ekologiska respektive konventionella mjölkbesättningar

(projekt nr H0530191)

## 1. BAKGRUND

Ekologisk produktion är en världsomspännande företeelse, vilken får allt större uppmärksamhet delvis pga den pågående klimatförändringen och försök att dämpa dess negativa effekter. Världsmarknaden för ekologiska livsmedel växer med ca 20 % per år och uppskattades 2002 till ca 200 miljarder kr. Betydande medel avsätts årligen för att stödja ekologisk produktion på nationell nivå, t.ex. år 2000 betalades 395 milj. kr i statligt stöd till ekologisk odling. År 2006 var 6,8 % av marken ekologiskt odlad i Sverige, varav 25 % var spannmålsodlingar. Till 2010 har regeringen som mål att 20 % av jordbruksarealen ska vara ekologiskt odlad.

En av det ekologiska lantbrukets målsättningar är att hålla hög kvalitet och livsmedelssäkerhet på ekologiska produkter. Den efterfrågade livsmedelssäkerheten beror i hög grad på kvaliteten i de fodermedel som används vid ekologisk produktion. Den vetenskapliga kunskapen om det ekologiska fodrets egenskaper och ev skillnader jämfört med konventionella fodermedel är dock enligt vår bedömning bristande.

Ekologisk odling förutsätter betydligt mindre användning av bekämpnings-/växtskyddsmedel jämfört med konventionellt produktionssätt. En viktig fråga är därmed huruvida halterna av naturliga gifter (t.ex. mykotoxiner) blir högre i ekologisk än i konventionell odling, och följaktligen om de ekologiskt producerade fodren och livsmedlen i så fall är farligare/mindre hälsosamma? Ett begränsat antal vetenskapliga undersökningar har gjorts för att utreda detta, men resultaten pekar åt olika håll.

Jämförande studier mellan odlingssätten och analyser av mykotoxiner har gjorts både i Sverige och i övriga Europa. Studierna är dock relativt få och i de flesta fall begränsade (låg antal prover) eller ej direkt jämförbara. I vissa fall har högre förekomst av mykotoxinet deoxynivalenol (DON) påvisats i ekologiskt odlat spannmål (Salomonsson m fl, 2002). En större undersökning gjord i Tyskland av främst konventionell odling visade däremot att vissa nya fungicider (svampmedel) kan förändra svampsammansättningen på spannmålskärnan och öka *Fusarium*angreppet med åtföljande förhöjning av toxininnehållet (Beck *et al.*, 2002).

Statens Veterinärmedicinska Anstalts (SVA) avdelning för foder fick under hösten 2001 in ett spannmålsprov från Blekinge, som grott på fältet. I detta material påvisades höga halter av DON. Detta ledde till att SVA tillsammans med Statens Jordbruksverk (SJV), under år 2001, utförde en utökad undersökning på halterna av mykotoxinerna DON, nivalenol (NIV), T2-toxin och HT2-toxin i foderspannmål. Totalt togs 57 prover från i huvudsak hemmaproducerat foderspannmål, varav 13 stycken uppgavs vara ekologiskt odlade. Fjorton prover hade DON-halter över 100 µg/kg (men klart under då gällande riktvärde på 4000 µg/kg foderråvara), sex av dessa var enligt uppgifter ekologiskt odlade. För DON kunde en signifikant skillnad i halt mellan ekologisk och konventionellt producerad foderspannmål påvisas. Materialet var dock alldeles för litet och undersökningen var alldeles för begränsad för att generella slutsatser skulle kunna dras om skillnader mellan produktionssystemen (Salomonsson m fl, 2002).

Det finns även tidigare nordiska studier (Olsen och Möller, 1995; Eltun R., 1996; Elmholt, 2003) som inte kunnat visa på några signifikanta skillnader av DON och NIV i spannmål med avseende på produktionssystem.

De ovannämnda studierna gällde ett mycket begränsat urval av mykotoxiner. Men med tanke på att fram till idag har man identifierat ungefär 400 olika mykotoxiner och antalet nyupptäckta mykotoxiner ökar stadigt (Filténborg *et al.*, 2000) förefaller studierna än mer otillräckliga.

En mikrobiologisk analys ger svar på vilken mikrobiell flora som finns i foderprovet, vilket i sin tur ger en fingervisning om vilka toxiska komponenter som kan finnas i fodret. Ett komplement till den mikrobiologiska undersökningen är kemiska analyser av mykotoxiner. Dessa undersökningar är dock dyra och täcker endast in ett mycket begränsat antal substanser. Immunometoder (ELISA) är snabba och billiga screeningmetoder men de är också specifika för ett bestämt mykotoxin. *In vitro* cytotoxiska metoder är däremot inte specifika för ett visst toxin utan kan istället användas för att screena generell cytotoxicitet, samtidigt som de inte kräver någon avancerad utrustning. Man kan alltså dra en slutsats att en utveckling mot generella toxicitetstester skulle vara till stor hjälp för riskbedömningen av fodret.

SVA:s Foder avdelning har sedan 1999 utvecklat en *in vitro* metod för att detektera cytotoxiska egenskaper i extrakt från framförallt fodermedel. I ett projekt (SLF dnr 224/99) kunde man t.ex. påvisa cytotoxiska egenskaper i extrakt från vissa fodermedel (framförallt torra fodermedel som spannmål) som ympats med mykotoxinproducerande mögelsvampar (*Aspergillus fumigatus*) (Wenehed *et al.*, 2003). I ett annat projekt kunde cytotoxiska egenskaper påvisas i mögelskadat ensilage (SLF dnr 132/02). Vi har därmed nu möjlighet att med alternativ teknik studera ev skillnader i cytotoxiska effekter i olika matraser.

Målsättning för projektet var:

- (i) Med hjälp av *in vitro* teknik studera ev skillnader i cytotoxiska effekter i ekologiskt respektive konventionellt foder.
- (ii) Med hjälp av mikrobiologiska metoder undersöka och jämföra tillväxt av svamparna *Aspergillus fumigatus* och *Penicillium roqueforti* (som är vanligt förekommande mögelsvampar på foder av nedsatt kvalitet) på fodermedel av ekologiskt och konventionellt ursprung.
- (iii) Att studera om fodermedel av ekologiskt ursprung kan innebära en ökad risk för nedsatt foderkvalitet.

## 2. MATERIAL OCH METODER

**2.1. Provinsamling.** Proverna samlades under hösten 2005 i samband med en fältstudie i SLU-projekt "Djurhälsa i ekologiska mjölkbesättningar" (SLU:s Institution för Idisslarmedicin och Veterinärmedicinsk Epidemiologi; projektledare Ulf Emanuelson, AgrD, professor). Till fältstudien valdes 20 besättningar, som varit godkända av KRAV under minst 2 år vid studiens början, och lika många konventionella besättningar. Besättningarna var anslutna till kokontroll och semin, hade minst 40 kor och låg inom ett geografiskt begränsat område. 20 konventionella besättningar valdes så att de matchade de ekologiska besättningarna med avseende på antal kor, avkastningsnivå, ras, etc. På varje gård togs två spannmålsprov, sammanlagt 40 ekologiska plus 40 konventionella.

**2.2. Mikrobiologiska undersökningar.** Mikrobiologisk bestämning av mögelfloran skedde direkt vid provankomst genom odling på agarplattor med bestämning av dominerande mögelsvampar enligt certifierade metoder uppsatta på SVA:s foderavdelning.

För att studera ev skillnader i svamptillväxt på spannmål av ekologiskt och konventionellt ursprung, ympades proverna med *Aspergillus fumigatus* och *Penicillium roqueforti*. Sporer av *Aspergillus fumigatus* (CCUG 17460) erhöles från Culture Collection, Göteborgs Universitet. Sporer av *Penicillium roqueforti* (IBT 21572) erhöles från BioCentrum-DTU, Technical University of Denmark. Sporerne odlades på malt extract agar (MEA) i 5 dagar under 25°C för *Penicillium roqueforti* och under 37°C för *Aspergillus fumigatus*. Efteråt blandades sporerne med 5 ml 0,85 % NaCl och steril 0,1 % Tween 80 för att nå koncentrationen  $1 \times 10^7$  konidier per ml. 1 ml av sporsuspensionen användes för ympning av proverna. Proverna inkuberades i 25°C respektive 37°C i två veckor och undersöktes med avseende på mögelfloran enligt certifierade metoder uppsatta på SVA:s foderavdelning.

**2.3. Provberedning för cytotoxiska undersökningar.** Proverna maldes och 25 g extraherades med 150 ml acetonitril/vatten (86:14, v/v). Extrakten (80-100 ml) filtrerades och koncentrerades till 10 ml under lågt tryck. För att undvika förekomst av interfererande substanser renades de koncentrerade extraktena på MultiSep 227 kolonner. Renade extrakten indunstades till torrhet under kvävgas.

**2.4. Cytotoxiska undersökningar.** Generell cytotoxicitet studerades med en *in vitro* metod som hade utvecklats och använts på SVA:s Foder avdelning i tidigare projekt (SLF dnr 224/99; SLF dnr 132/02; Wenehed *et al.*, 2003). Experimenten utfördes på humana neuroblastomaceller (SH-SY5Y) som är en cellinje som lämpar sig väl som modell för att studera generell cytotoxicitet. Cellerna odlades rutinmässigt med Earle's Minimum Essential Medium (MEM) kompletterat med 10 % fetalt kalvserum och 2 mM L-glutamin. Cellerna subkultiverades 1 gång/vecka med trypsin 0,05%/EDTA 0,02%. Medium byttes var 3-4:e dag. Cellerna såddes ut i 96-brunnsplattor i en celltäthet av ca 20000 celler/brunn i komplett MEM. Efter 24 timmar exponerades de för extrakten (se p. 2.3). Innan exponering löstes de indunstade extrakten upp i etanol och första spädningssteget var 1:500 i komplett MEM för att få en etanolkoncentration som är acceptabel för cellerna (max 0,2 %). Etanol tillsattes sedan till alla spädningssteg för att få samma koncentration av lösningsmedlet. Kontrollcellerna fick nytt medium med tillsatts av etanol. Exponeringen pågick under 72 timmar. Detta exponeringssätt är ett alternativ när endast den generella cytotoxiciteten ska bestämmas. Varje prov analyserades minst tre gånger för att säkerställa reproducerbara resultat och få bättre underlag för statistisk bearbetning av resultaten.

De cytotoxiska effekterna av en substans kan bestämmas genom att celltillväxten (proliferationen), eller vid höga koncentrationer celldöd, studeras. Detta kan göras genom att mäta mängden totalprotein i cellerna enligt en modifierad version (Forsby *et al.*, 1995) av metoden beskriven av Lowry *et al.*, 1951. Inhiberad celltillväxt beräknas som minskningen av absorbansen, jämfört med kontroll.

**2.5. Statistisk metodik för utvärdering av data.** Sambandet mellan spannmålets ursprung (ekologiskt eller konventionellt) och resultaten från de mikrobiologiska undersökningarna skattades med multivariabel linjär regression och ANOVA. I modellen ingick, förutom effekten av ursprung, även effekterna av typ av spannmål (matrix). I analysen av mögeltillväxt ingick dessutom effekten av inkuberingstemperatur och effekten av att samma prov analyserades upprepade gånger. Sambandet mellan spannmålets ursprung och resultaten från de cytotoxiska undersökningarna skattades med multivariabel linjär regression och ANOVA, där övriga effekter i modellen var matrix och mängd spannmål per ml medium (koncentration). Hänsyn togs även till de upprepade mätningarna, som antogs följa en autoregressiv kurva.

3. RESULTAT OCH DISKUSSION

3.1. Resultat av mikrobiologiska undersökningar vid provankomst presenteras i Tabell 1.

Tabell 1. Resultat av mikrobiologisk undersökning av mögelfloran vid provankomst

Provnr	Provmaterial	Vattenaktivitet, Aw	Totalantal aeroba bakterier, log cfu/g (SJV <sup>1</sup> 7,7)	Mögel, log cfu/g (SJV <sup>1</sup> 5,0)	Mögel – dominerande arter	LS-mögel <sup>2</sup> , % (SJV <sup>1</sup> 35)	Fusarium <sup>3</sup> spp, %
<b>EKOLOGISKA SPANNMÅL</b>							
30650	havre	0,71	8,0	5,3	<i>Penicillium verrucosum</i>	46	35
39517	havre	0,63	8,9	6,0	<i>Cladosporium</i> spp	0	80
84409	havre	0,71	8,6	5,5	<i>Cladosporium</i> spp	4	35
83349	havre	0,80	8,3	5,3	<i>Eurotium</i> spp	76	5
40321	havre	0,67	6,7	5,6	<i>Aspergillus</i> spp	78	0
45131	korn	0,73	8,3	5,0	<i>Cladosporium</i> spp	0	25
40562	korn	0,78	8,0	5,0	<i>Cladosporium</i> spp	2	30
30207	korn	0,65	7,5	5,7	<i>Aspergillus candidus</i>	28	25
81484	korn	0,54	7,0	4,0	<i>Cladosporium</i> spp	0	10
40817	korn	0,74	8,0	5,0	<i>Cladosporium</i> spp	0	45
81250	korn	0,67	8,2	4,9	<i>Cladosporium</i> spp, <i>Fusarium</i> spp	0	45
83349	rågvete	0,73	7,3	4,3	<i>Cladosporium</i> spp	0	0
81250	rågvete	0,63	7,6	5,0	<i>Cladosporium</i> spp	0	5
45131	vete	0,71	7,7	5,0	<i>Cladosporium</i> spp	0	15
40562	vete	0,72	7,6	5,0	<i>Cladosporium</i> spp	0	20
45033	vete	0,63	6,9	5,0	<i>Cladosporium</i> spp	2	15
30207	vete	0,78	6,0	4,5	blandflora	0	0
84732	vete	0,72	6,7	5,0	<i>Aspergillus candidus</i> , <i>Aspergillus</i> spp	18	0
82329	vete	0,57	6,8	4,3	<i>Cladosporium</i> spp	0	0
40321	vete	0,71	7,7	5,7	<i>Cladosporium</i> spp	20	5
81484	blandsäd (syra)	0,87	5,6	3,3		2	0
40943	blandsäd	0,77	8,6	5,5	<i>Cladosporium</i> spp	28	30
41631	havre, korn	0,83	8,3	6,3	<i>Cladosporium</i> spp	0	20
39517	havre, korn	0,73	9,0	6,0	<i>Cladosporium</i> spp	0	50
31813	havre, korn, vete, ärtor (syra)	0,86	6,8	< 3,0		0	0
82919	havre, rågvete	0,75	8,0	5,6	<i>Eurotium</i> spp, <i>Penicillium</i> spp, <i>Cladosporium</i> spp	70	5
84409	havre, rågvete	0,68	8,3	5,8	<i>Cladosporium</i> spp	0	50
30514	havre, ärtor	0,81	7,8	5,0	<i>Cladosporium</i> spp, <i>Fusarium</i> spp, <i>Aspergillus candidus</i>	16	40
84732	havre, ärtor	0,62	9,0	6,6	<i>Cladosporium</i> spp	4	45
30650	korn, vete	0,69	7,6	4,0	<i>Cladosporium</i> spp	6	20
45083	korn, vete, ärtor (CO <sub>2</sub> -lagrade)	0,77	8,0	4,7	<i>Eurotium</i> spp	22	20

<b>KONVENTIONELLA SPANNMÅL</b>							
42541	havre	0,72	7	5,9	<i>Cladosporium</i> spp, <i>Aspergillus candidus</i>	0	25
41553	havre	0,73	8,3	5,8	<i>Cladosporium</i> spp	4	15
41085	havre	0,75	8,5	6	<i>Cladosporium</i> spp	8	55
40618	havre	0,72	7,3	3,6	<i>Cladosporium</i> spp	0	0
41598	havre	0,72	8,5	5,6	<i>Cladosporium</i> spp	0	25
40643	havre	0,68	9	5,8	<i>Cladosporium</i> spp	0	25
32778	havre	0,83	8,4	5,7	<i>Cladosporium</i> spp	4	60
30445	havre	0,66	8,3	5,8	<i>Cladosporium</i> spp	0	65
81398	havre	0,72	8,9	6,5	<i>Cladosporium</i> spp	0	45
84256	havre	0,72	8,5	5,9	<i>Cladosporium</i> spp	8	25
81483	havre	0,64	7,9	5	<i>Cladosporium</i> spp	0	15
81056	havre	0,56	8,6	5,8	<i>Cladosporium</i> spp	0	25
81514	havre	0,72	8,8	6,3	<i>Cladosporium</i> spp	0	5
82018	havre	0,62	8,7	6,3	<i>Cladosporium</i> spp	0	45
42541	korn	0,82	7,8	5,0	<i>Cladosporium</i> spp, <i>Aspergillus candidus</i>	0	30
41553	korn	0,71	7,8	5	<i>Cladosporium</i> spp	0	25
41085	korn	0,69	7,9	4,9	<i>Cladosporium</i> spp, <i>Fusarium</i> spp	4	25
40618	korn (sytrat)	0,68	7,7	2,3		0	0
41598	korn	0,58	8	5	<i>Cladosporium</i> spp	0	25
39521	korn	0,70	8,5	4,8	<i>Cladosporium</i> spp	0	10
40643	korn	0,62	8,5	5,3	<i>Cladosporium</i> spp	0	15
32778	korn	0,80	8	5	<i>Cladosporium</i> spp	0	60
30445	korn	0,67	7,9	4,7	<i>Cladosporium</i> spp, <i>Fusarium</i> spp	0	35
41188	korn	0,73	8	5,3	<i>Cladosporium</i> spp	4	40
81398	korn	0,68	7,9	5	<i>Cladosporium</i> spp	2	20
81087	korn	0,7	8	5	<i>Cladosporium</i> spp	0	20
54236	korn (sytrat)	0,88	< 5	< 3		0	0
81514	korn	0,79	8,6	5,5	<i>Cladosporium</i> spp	0	25
82018	korn (sytrat)	0,81	6,2	< 2		0	0
39521	rågvete	0,73	7,5	4,8	<i>Cladosporium</i> spp	4	5
81483	rågvete	0,67	7,5	5	<i>Cladosporium</i> spp	0	10
81056	rågvete	0,68	7,7	5,5	<i>Cladosporium</i> spp	0	10
45106	havre, korn	0,66	8,9	5,8	<i>Cladosporium</i> spp	0	20
81454	havre, vete (sytrade)	0,85	< 5	< 3		0	0

<sup>1</sup> – lagringsskadesvampar (*Aspergillus* och *Penicillium*), andel endogent infekterade spannmålskärnor

<sup>2</sup> – *Fusarium* spp, andel endogent infekterade spannmålskärnor

<sup>3</sup> – av Statens Jordbruksverk rekommenderade riktvärden (SJV FS 2006:81, ”Allmänna råd ... om hygieniska kvalitetsvärden (riktvärden) för foder”)

**Vattenaktivitet:** inga statistiskt signifikanta skillnader detekterades mellan spannmål av ekologiskt och konventionellt ursprung (medelvärde 0,70 i både fall). Det bör dock uppmärksammas att vattenaktivitet i 21 av 31 (68 %) ekologiska prover och i 18 av 34 (53 %) konventionella prover överskred 0,70, vilket innebär att proverna skulle bli lagringsinstabila (rekommenderat värde för lagringsstabilitet är  $\leq 0,70$ ). Anledning till överskridandet undersöktes ej i projektet.

Totalantal aeroba bakterier: medelvärde för ekologisk spannmål är 7,8 log cfu/g, för konventionell – 8,2 log cfu/g, vilket kan ej bedömas som statistiskt signifikant skillnad. Både värden överskrider något av SJV:s rekommenderade riktvärden för torkad spannmål – 7,7 log cfu/g. Överskridandet bedöms dock ej vara av allvarlig karaktär.

Mögel: medelvärde för ekologisk spannmål är 5,2 log cfu/g, för konventionell – 5,5 log cfu/g, vilket kan ej bedömas som statistiskt signifikant skillnad. Både värden överskrider något av SJV:s rekommenderade riktvärden för torkad spannmål – 5,0 log cfu/g. Överskridandet bedöms dock ej vara av allvarlig karaktär.

Lagringsskadesvampar (*Aspergillus* och *Penicillium*), andel endogent infekterade spannmålskärnor: medelvärde för ekologisk spannmål är 14 %, för konventionell – 1 %, vilket kan bedömas som statistiskt signifikant skillnad (SJV:s rekommenderade riktvärden för torkad spannmål är 35 %). Skillnaden mellan spannmål av de två odlingssätten kan förklaras med att vattenaktivitet i 68 % av ekologisk spannmål var högre än 0,70 samtidigt som 53 % av konventionell spannmål hade lika höga vattenaktivitets värden.

*Fusarium* spp, andel endogent infekterade spannmålskärnor: medelvärde för ekologisk spannmål är 23 %, för konventionell – 28 %, vilket kan ej bedömas som statistiskt signifikant skillnad. SJV:s rekommenderade riktvärden för torkad spannmål finns ej.

Enligt vår kännedom är projektet den första jämförelsestudie i Sverige som syftar på att studera ev skillnader i mikrobiologisk kvalitet mellan spannmål av ekologiskt och konventionellt ursprung.

3.2. Medelvärde för mögel efter 2 veckors ympning med *Aspergillus fumigatus* och *Penicillium roqueforti* i 25°C både för ekologisk och för konventionell spannmål är 5,7 log cfu/g. Medelvärde för mögel efter 2 veckors ympning med *Aspergillus fumigatus* och *Penicillium roqueforti* i 37°C är 5,3 log cfu/g för ekologisk spannmål, och 5,0 log cfu/g för konventionell. Följaktligen kan det konstateras att inga statistiskt signifikanta skillnader upptäcktes i studien med avseende på ev skillnader i svamptillväxt på spannmål av ekologiskt och konventionellt ursprung.

3.3. Resultat av studie med avseende på generell cytotoxicitet i havre, korn och rågvetete av ekologiskt och konventionellt ursprung är presenterade i bild 1-3.

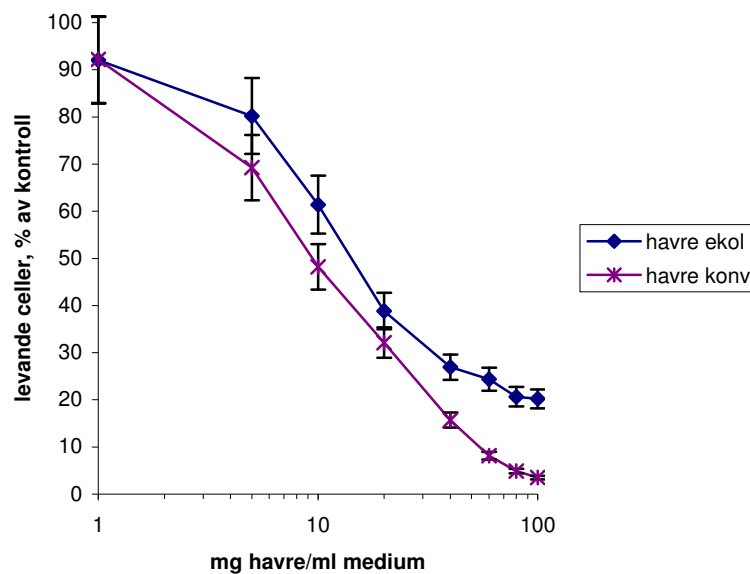


Bild 1. Cytotoxiska egenskaper i havre av ekologiskt och konventionellt ursprung

Det är intressant att observera att cytotoxiska egenskaper var något starkare i havre av konventionellt ursprung än i havre av ekologiskt ursprung. Skillnaden statistiskt säkerställdes för koncentrationer 60, 80 och 100 mg spannmål/ml medium ( $p$ -värde  $< 0,05$ ). Utredning av ev orsak/-er angående den skillnaden skedde ej i projektet. Projektets resultat ger dock inte tillräckligt med vetenskapligt underlag för en slutsats angående ev toxisk påverkan av fodret på djur. Ytterligare undersökningar krävs för att försöka klarlägga faktorer som kan påverka cytotoxiska egenskaper i spannmål. En hypotes kan vara att bildning av sekundära metaboliter med cytotoxiska egenskaper sker i högre omfattning i havre av konventionellt ursprung än i ekologisk havre.

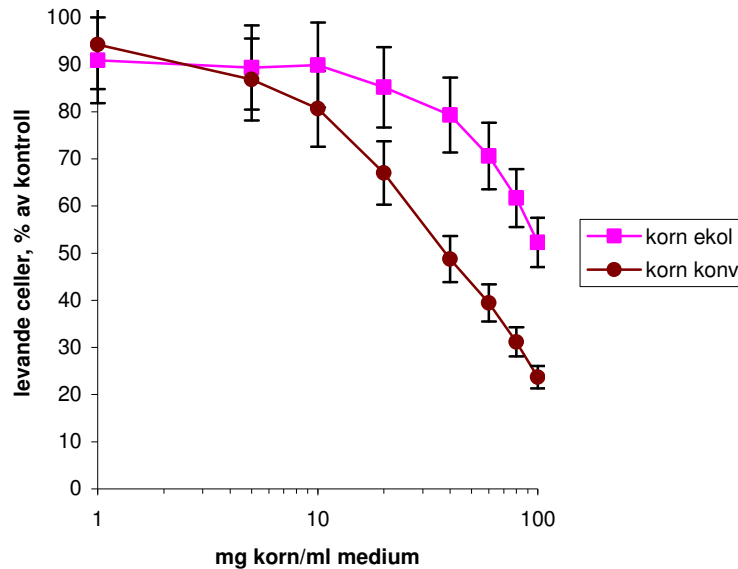


Bild 2. Cytotoxiska egenskaper i korn av ekologiskt och konventionellt ursprung

Det är intressant att observera att cytotoxiska egenskaper var starkare i korn av konventionellt ursprung än i korn av ekologiskt ursprung. Skillnaden statistiskt säkerställdes för koncentrationer 20, 40, 60, 80 och 100 mg spannmål/ml medium ( $p$ -värde  $< 0,05$ ). Utredning av ev orsak/-er angående den skillnaden skedde ej i projektet. Projektets resultat ger dock inte tillräckligt med vetenskapligt underlag för en slutsats angående ev toxisk påverkan av fodret på djur. Ytterligare undersökningar krävs för att försöka klarlägga faktorer som kan påverka cytotoxiska egenskaper i spannmål. En hypotes kan vara att bildning av sekundära metaboliter med cytotoxiska egenskaper sker i högre omfattning i korn av konventionellt ursprung än i ekologiskt korn.

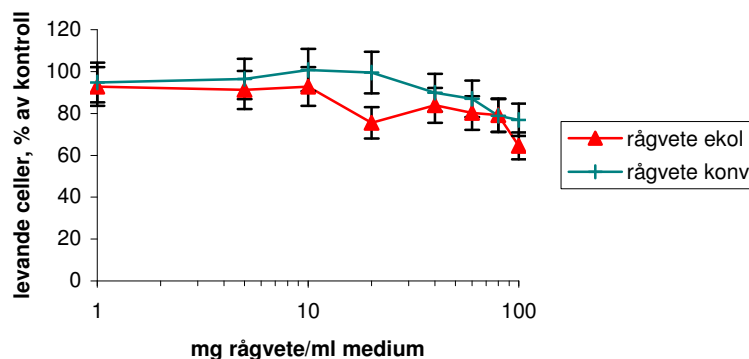


Bild 3. Cytotoxiska egenskaper i rågvete av ekologiskt och konventionellt ursprung

I motsats till havre och korn kunde inga statistiskt signifikanta skillnader i cytotoxiska egenskaper påvisas för rågvete av ekologiskt och konventionellt ursprung. För alla koncentrationer var p-värde  $\gg 0,05$ .

Enligt vår kännedom är projektet den första studie som tillämpat *in vitro* teknik för att jämföra cytotoxiska egenskaper i spannmål av ekologiskt och konventionellt ursprung.

#### 4. RESULTATFÖRMEDLING

Resultaten från projektet redovisades på konferens "Mycotoxins & Phycotoxins", Colby College, USA, juni 2007 (poster bifogas). Resultaten kommer också att publiceras i vetenskapliga tidskrifter med referee-system, t.ex. J Dairy Sci, Acta Agric Scand, J Fd & Agric Chem etc. och målgruppen passas till olika kategorier såsom veterinärer och rådgivare. Detta ska ske genom redovisningar på nationella konferenser och möten t.ex. Svensk Mjölks Djurhälso- och utfodringskonferens och Djurägarseminarium, samt via CUL's hemsida.

#### 5. SAMARBETE OCH INTEGRATION MED ANDRA PROJEKT

Projektet genomfördes i samarbete med projekt "Djurhälsa i ekologiska mjölkbesättningar" vid SLU:s Institution för Idisslarmedicin och Veterinärmedicinsk Epidemiologi (projektledare Ulf Emanuelson, AgrD, professor).

#### 6. SLUTSATSER

1. Vattenaktiviteten i 68 % av ekologiska spannmålsprover och i 53 % av konventionella spannmålsprover överskred 0,70, vilket är ej tillfredställande ur lagringsstabilitet synvinkel. En rekommendation är att förbättra kontroll över torkning av det spannmål som avses för lagring under en länge tid.
2. Förekomst av lagringsskadesvampar (*Aspergillus* och *Penicillium*) var högre i spannmål av ekologiskt ursprung än i konventionell spannmål, vilket kan leda till försämrad lagringsstabilitet (för rekommendation se slutsats 1). Andra mikrobiologiska parametrar skilde sig ej markant mellan spannmål av ekologiskt och konventionellt ursprung.
3. Inga statistiskt signifikanta skillnader påvisades i svamptillväxt på spannmål av ekologiskt och konventionellt ursprung efter ympning med *Aspergillus fumigatus* och *Penicillium roqueforti*.
4. Cytotoxiska egenskaper var starkare (statistiskt säkerställt) i havre av konventionellt ursprung än i havre av ekologiskt ursprung.
5. Cytotoxiska egenskaper var starkare (statistiskt säkerställt) i korn av konventionellt ursprung än i korn av ekologiskt ursprung.
6. Inga statistiskt signifikanta skillnader i cytotoxiska egenskaper kunde påvisas mellan rågvete av ekologiskt och konventionellt ursprung.
7. Provtagning och relevanta undersökningar bör upprepas för att säkerställa att de påvisade skillnaderna mellan proverna av ekologiskt och konventionellt ursprung ej beror på säsong-/klimatvariation.
8. Ytterligare undersökningar krävs för att försöka klarlägga faktorer som kan påverka cytotoxiska egenskaper i spannmål. Kemiska metoder bör utvecklas för identifiering/kvantifiering av i nuläget okända/oidentifierade toxiska sekundära metaboliter från olika mögelsvampar.



9. Den använda cellmodellen, humana SH-SY5Y neuroblastomaceller, och metoden att bestämma den totala proteinmängden i cellerna som mått på cytotoxicitet visade sig ge reproducerbara resultat.
10. Ev skillnader i ämnesomsättning och immunologisk status hos djur som utfodras med ekologiskt eller konventionell spannmål bör studeras djupare.

## 7. LITTERATUR

- Beck C., Oerke E. C. and Dehne H. W. 2002. Impact of strobilurins on physiology and yield formation of wheat. *Meded Rijksuniv Gent Fak Landbouwkde Toegep Biol Wet* **67** (2), 181-187.
- Elmholt S. 2003. Ecology of the ochratoxin A producing *Penicillium verrucosum*: occurrence in field soil and grain with special attention to farming system and on-farm drying practices. *Biological agriculture & horticulture* **20**, 311-337.
- Eltun R. 1996. The Apelsvoll cropping system experiment III. Yield and grain quality of cereals. *Norw J Agric Sci* **10** (1), 7-22.
- Filtenborg O., Frisvad J. C. and Samson R. A. 2000. Specific associations of fungi to foods and influence of physical environmental factors. In: Samson R. A., Hoekstra E. S., Frisvad J. C. & Filtenborg O. (eds.): Introduction to food- and airborne fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS), Utrecht, Holland. s. 306-320.
- Forsby A., Pilli F., Bianchi V. and Walum E. 1995. Determination of critical cellular neurotoxic concentrations in human neuroblastoma (SH-SY5Y) cell cultures. *ATLA* **23**, 800-11.
- Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L. and Randall R. J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* **193**, 262-75.
- Olsen M. och Möller T. 1995. Mögel och mykotoxiner i spannmål. *Vår Föda* **8**, 30-33.
- Rydberg N. T. and Milberg P. 2000. A survey of weeds in organic farming in Sweden. *Biological agriculture & horticulture* **18**, 175-185.
- Salomonsson A-C., Häggblom P., Jansson L., Nordqvist E., Norén E. och Alness K. 2002. Fusariumtoxiner i spannmål från 2001 års skörd. SVA rapport.
- Wenehed V., Solyakov A., Thylin I., Häggblom P. and Forsby A. 2003. Cytotoxic response of *Aspergillus fumigatus*-produced mycotoxins on growth medium, maize and commercial animal feed substrates. *Food Chem Toxicol* **41** (3), 395-403.