



Ochratoksyna A, deoksynivalenol, toksyny T-2 i HT-2 – występowanie w żywności i ich wpływ na organizm człowieka

Ochratoxin A, deoxynivalenol, T-2 and HT-2 toxins – occurrence in food and their effect on the human body

Joanna Kochman^{1,2,B-D}, Karolina Patrycja Jakubczyk^{1,A,E-F}, Justyna Antoniewicz^{1,B},
Katarzyna Janda^{1,E-F}

¹ Katedra i Zakład Żywności Człowieka i Metabolomiki, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Polska
A – Koncepcja i projekt badania, B – Gromadzenie i/lub zestawianie danych, C – Analiza i interpretacja danych,
D – Napisanie artykułu, E – Krytyczne zrecenzowanie artykułu, F – Zatwierdzenie ostatecznej wersji artykułu

Kochman J, Jakubczyk KP, Antoniewicz J, Janda K. Ochratoksyna A, deoksynivalenol, toksyny T-2 i HT-2 – występowanie w żywności i ich wpływ na organizm człowieka. Med Og Nauk Zdr. 2021; 27(2): 117–120. doi: 10.26444/monz/135771

■ Streszczenie

Wprowadzenie i cel pracy. Mykotoksyny są metabolitami wtórnymi grzybów strzępkowych. Te występujące w żywności stwarzają niebezpieczeństwo dla zdrowia konsumentów, stanowiąc substancje o silnie toksycznym działaniu. Skutki związane z ostrym zatruciem lub przewlekłą umiarkowaną ekspozycją na toksyny grzybów strzępkowych polegają głównie na ich działaniu cytotoksycznym, karcinogennym oraz indukującym stan zapalny i stres oksydacyjny organizmu. Celem przeglądu było podsumowanie dostępnych wiadomości na temat występowania w żywności oraz wpływu na organizm człowieka ochratoksyny A, deoksynivalenolu oraz toksyn T-2 i HT-2.

Opis stanu wiedzy. Ochratoksyna A jest powszechnie występującą toksyną, uznaną przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem za potencjalnie rakotwórczą. Produktami żywnościowymi najbardziej narażonymi na zanieczyszczenie ochratoksyną A są produkty zbożowe, winogrona, kawa oraz kakao. Deoksynivalenol, produkowany przez grzyby glebowe z rodzaju *Fusarium*, jest wykrywany głównie w produktach zbożowych – pszenicy, owsie, jęczmieniu, życie i ryżu. Jego nadmierna ilość w pożywieniu wiąże się m.in. z objawami ze strony układu pokarmowego obejmującymi silne wymioty oraz biegunkę. Narażenie na mykotoksyny występujące w żywności może być zmniejszane dzięki zachowaniu optymalnych warunków przechowywania surowców, czystości linii produkcyjnej, odkażaniu pasz i żywności oraz zmniejszeniu ich biodostępności, m.in. dzięki stosowaniu absorbentów. Dodatkowo, jak wykazano w przypadku toksyn T-2 i HT-2, skutkiem ekspozycji na mykotoksyny można przeciwdziałać poprzez zwiększenie przyjmowania substancji o działaniu antyoksydacyjnym.

Podsumowanie. Zanieczyszczenie żywności mykotoksynami stanowi poważny problem w przetwórstwie żywności. Słuszne

wydaje się ustalenie norm dopuszczalnego poziomu mykotoksyn dla szerszej grupy produktów spożywczych.

■ Słowa kluczowe

mykotoksyny, zanieczyszczenie żywności, Ochratoksyna A, deoksynivalenol, toksyna T-2, HT-2

■ Abstract

Introduction and objective. Mycotoxins are secondary metabolites of filamentous fungi. Occurring in food, they pose a threat to the health of consumers, being highly toxic substances. The effects associated with acute poisoning or chronic moderate exposure to fungal toxins are mainly based on cytotoxic, carcinogenic and inducing inflammation and oxidative stress in the organism. The aim of the review was to summarize the available information on the occurrence of ochratoxin A, deoxynivalenol and T-2 and HT-2 toxins in food and the effects on the human body.

State of knowledge. Ochratoxin A is a common toxin recognized by the International Agency for Research on Cancer as potentially carcinogenic. The food groups most exposed to contamination are cereal products, grapes, coffee and cocoa. Deoxynivalenol, produced by soil fungi of the genus *Fusarium*, is mainly found in grain products – wheat, oats, barley, rye and rice. Its excessive exposure is associated with gastrointestinal symptoms, including severe vomiting and diarrhea. Exposure to mycotoxins occurring in food can be reduced by maintaining optimum conditions for storing raw materials, sterile production line, disinfecting feed and food, and reducing bioavailability, thanks to the use of absorbents. Additionally, as demonstrated with T-2 and HT-2 toxins, the effects of mycotoxin exposure can be counteracted by increasing antioxidant intake.

Conclusion. Food contamination with mycotoxins is a serious problem in food processing. It seems appropriate to set standards for acceptable levels of mycotoxins for a wider group of food products.

■ Key words

mycotoxins, food contamination, ochratoxin A, deoxynivalenol, T-2, HT-2 toxin

Adres do korespondencji: Karolina Patrycja Jakubczyk, Katedra i Zakład Żywności Człowieka i Metabolomiki, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, ul. Brońskiego 24, 71-460 Szczecin
E-mail: jakubczyk.kar@gmail.com

Nadesłano: 18.01.2021; zaakceptowano do publikacji: 14.04.2021; publikacja online: 29.04.2021

WPROWADZENIE

Grzyby, w sytuacji gdy poddawane są bodźcom chemicznym lub przebywają w zmiennych warunkach klimatycznych, gdzie oddziałują na nie wahania temperatury i wilgotności oraz dostępu do tlenu, mają zdolność wytwarzania wtórnych metabolitów, które stanowią odpowiedź metaboliczną na stres środowiskowy, oraz mogą tworzyć obronę chemiczną przed szkodnikami [1–3]. Powstałe wówczas toksyny, zwane mykotoksynami, to ubocznie syntetyzowane związki o szerokim zakresie działania biologicznego [4]. Mają one szczególnie negatywny wpływ na zdrowie człowieka i prowadzą w nagłych sytuacjach do ostrego zatrucia lub podczas długotrwałej, lecz nieintensywnej ekspozycji, do wielu przewlekłych chorób [5, 6]. Obecność wspomnianych substancji w produktach spożywczych niesie poważne konsekwencje i ważne jest, aby ich stężenie było stale monitorowane oraz aby eliminować je z łańcucha pokarmowego człowieka oraz zwierząt [7].

Mykotoksyny obecne w żywności są głównie wytwarzane przez grzyby strzępkowe, najczęściej należące do rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium* oraz *Fusarium* [8, 9]. Są to jedne z bardziej toksycznych związków, które powszechnie można znaleźć w produktach spożywczych [6]. Najczęściej zanieczyszczonymi produktami spożywczymi są te pochodzenia roślinnego, a szczególnie udokumentowane są zanieczyszczenia produktów zbożowych, warzyw, orzechów, suszonych owoców oraz ziaren kawy [7]. Zanieczyszczenia mogą pojawić się na drodze naturalnej, gdy sam surowiec zostanie zakażony wtórnymi metabolitami grzybów, lub podczas procesów technologicznych związanych ze zbiorem, przechowywaniem, transportem oraz wytwarzaniem produktu [7, 10].

Aktualnie ochrona konsumentów przed narażeniem na działanie mykotoksyn może polegać zarówno na hamowaniu rozwoju pleśni w produktach żywnościowych i zmniejszeniu możliwości wydzielania przez nie toksyn, bezpośrednim odkażaniu pasz oraz żywności, jak i na zmniejszeniu biodostępności mykotoksyn w przewodzie pokarmowym zwierząt oraz ludzi dzięki użyciu absorbentów [11]. Zmniejszone zostaje wówczas ryzyko kontaktu i oddziaływania toksyny na organizm [12]. Dodatkowo rolę naturalnej ochrony gospodarza może stanowić jego własna mikroflora jelitowa. Interakcje mikrobiomu z mykotoksynami, prowadzące do zmniejszenia toksyczności oraz zmiany w strukturze chemicznej toksyn, mogą wpływać na aktywność, toksyczność i dostępność mykotoksyn w organizmie konsumenta [13].

CEL PRACY

Celem niniejszego przeglądu było zebranie dostępnych informacji na temat występowania i wpływu na organizm człowieka trzech mykotoksyn (ochrotoksyna A, deoksyniwalenolu oraz toksyn T-2 oraz HT-2), stanowiących zagrożenie w łańcuchu pokarmowym człowieka.

CHARAKTERYSTYKA MYKOTOKSYN

Ochrotoksyna A

Ochrotoksyna A (OTA, ang. ochratoxin A) jest produkowana przede wszystkim przez pleśnie z rodzaju *Aspergillus* oraz *Penicillium*. Może wywierać negatywny wpływ na zdrowie,

szczególnie ujawniając działanie karcinogenne, teratogenne, immunosupresyjne, geno- oraz nefrotoksyczne [13, 14]. W 1993 roku została uznana przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem (IARC, International Agency for Research on Cancer) za toksynę potencjalnie wywołującą chorobę nowotworową u ludzi [15]. Jest powszechnie obecna w produktach spożywczych, a uniknięcie jej udziału w łańcuchu pokarmowym człowieka jest wysoce skomplikowane [16, 17]. Produktami o największym zanieczyszczeniu, stanowiącymi potencjalne zagrożenie mikologiczne, są produkty zbożowe, kukurydza, winogrona, sok winogronowy, wino, kawa, kakao, orzechy oraz suszone owoce [18, 19]. Nawet 10–15% przyjmowanej przez ludzi z codzienną dietą OTA może pochodzić z wina [6]. Wysokie powinowactwo wiązania się OTA z białkami może sprzyjać bioakumulacji w narządach zwierząt, dlatego mięso i produkty pochodzenia zwierzęcego również mogą być nią zainfekowane [17].

Jej obecność w winach zależy od temperatury, pH, aktywności wody oraz odmiany winogron [20]. Wzrost i rozwój szczepów produkujących OTA możliwy jest przy wilgotności wynoszącej kilkanaście procent, natomiast optymalna temperatura mieści się w przedziale od 25 do 30°C [14]. Efektywna synteza zachodzi przy aktywności wody wynoszącej 0,98 [21]. Stres oksydacyjny, organiczne źródła węgla i azotu mogą wpływać na biosyntezę oraz zwiększać toksyczność ochrotoksyny A [19, 21].

OTA wchłaniana jest głównie drogą pokarmową, może ona zaburzać barierę jelitową oraz indukować dysharmonię redoks, zwiększając syntezę wolnych rodników [22]. Zaburzając transport fosforanów oraz elektronów, zakłóca proces syntezy ATP w mitochondriach [23], dodatkowo hamuje cykle komórkowe [16]. Narządami szczególnie narażonymi na działanie OTA są nerki oraz wątroba. Skutki jej oddziaływania na organizm człowieka związane są z postępującą chorobą nerek, w której występuje zwłóknienie komórek oraz zanik kanalików nerkowych [17, 22].

Wyznaczony limit, ustanowiony dla zanieczyszczenia wina ochrotoksyną A, wynosi 2 µg/L [24]. Tygodniowe tolerowane spożycie OTA zostało ustalone na 0,12 µg/kg masy ciała [25].

Tabela 1. Normy wyznaczone dla ochrotoksyny A w wybranych produktach spożywczych oraz sumaryczna tygodniowa tolerowana wielkość jej spożycia, na podstawie Rozporządzenia Komisji (WE) NR 1881/2006 oraz raportu wydanego przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności

Produkty żywnościowe	Maksymalna zawartość [µg/kg]	Sumaryczna tygodniowa tolerowana ilość spożytej OTA ze wszystkich źródeł spożywczych
Produkty zbożowe	5	0,12 µg/kg masy ciała
Kawa (ziarna)	5	
Rodzynki	10	
Wino	2	

Źródło: [24, 25]

Deoksyniwalenol

Deoksyniwalenol (DON, ang. deoxynivalenol) jest toksyną z rodziny trichotecenów, produkowaną przez grzyby z rodzaju *Fusarium*, szczególnie przez gatunki *F. graminearum*, *F. culmorum* oraz *F. cerealis*. Są to grzyby występujące w glebie, dlatego zakażenie może wystąpić już podczas uprawy surowca. Trichoteceny zostały podzielone na cztery grupy (A–D), przy czym DON jest przedstawicielem grupy B [5, 13]. Zanieczyszcza on głównie zboża takie jak: pszenica,

owies, jęczmień, żyto, ryż, kukurydza oraz produkty z nich wytworzone [26].

DON, wiążąc się z rybosomami, wpływa na upośledzenie syntezy białek oraz DNA i RNA. Indukuje procesy zapalne oraz komórkowy stres oksydacyjny [27]. Duże narażenie na obecność DON może skutkować objawami ze strony układu pokarmowego, szczególnie intensywnymi wymiotami, biegunką spowodowaną zapaleniem nabłonka jelita cienkiego, bólami oraz zawrotami głowy z współwystępującą gorączką, jak również zahamowaniem apetytu oraz utratą masy ciała [13, 27].

Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA, European Food Safety Authority) wyznaczył tolerowane dzienne spożycie (TDI, ang. tolerable daily intake) DON na poziomie 1 µg/kg masy ciała w celu ograniczenia ryzyka przewlekłego narażenia konsumentów na działanie tej toksyny [27]. Maksymalne stężenie deoksynivalenolu zostało określone dla surowców najbardziej narażonych na zanieczyszczenie (zbożowe produkty spożywcze gotowe do spożycia), w których limit DON wynosi 750 µg/kg [26].

Tabela 2. Normy maksymalnej zawartości deoksynivalenolu wyznaczone dla wybranych produktów spożywczych oraz dzienna tolerowana ilość spożytej mykotoksyny na podstawie Rozporządzenia Komisji (WE) NR 1881/2006 oraz raportów wydanych przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności

Produkty żywnościowe	Maksymalna zawartość [µg/kg]	Tolerowane dzienne spożycie ze wszystkich źródeł spożywczych
Produkty zbożowe gotowe do spożycia	750	1 µg/kg masy ciała
Makaron	750	
Chleb i wyroby cukiernicze	500	
Żywność przeznaczona dla niemowląt	200	

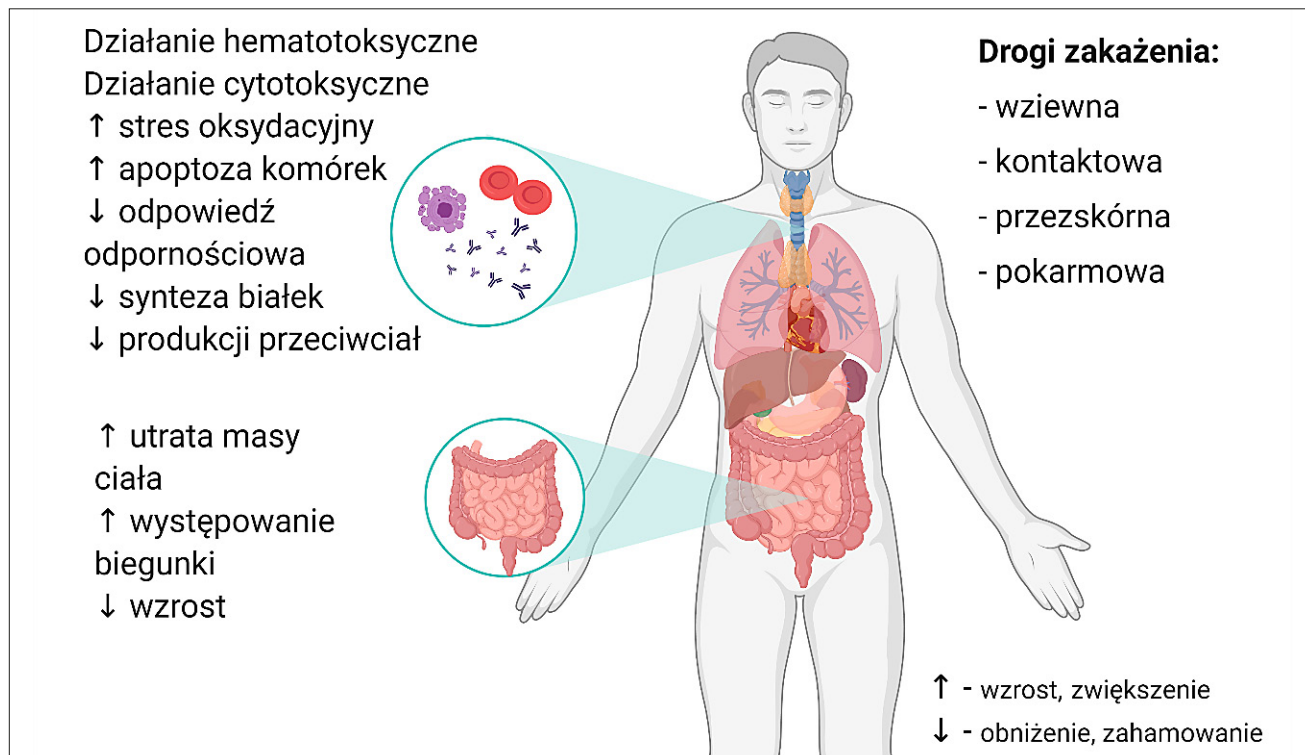
Źródło: [24, 26, 27]

Toksyny T-2 oraz HT-2

Toksyny T-2 oraz HT-2 należą do mykotoksyn z rodziny trichotecenów z grupy A, które są uważane za bardziej toksyczne niż trichoteceny innych grup, w tym grupy B [13]. Ich potencjalne działanie na organizm człowieka zostało przedstawione na ryc. 1. Wytwarzane są przez gatunki z rodzaju *Fusarium*, w tym *F. poae*, *F. moniliforme* oraz *F. sporotrichioides* [12]. Szczepy te należą do grzybów glebowych, dlatego zakażenie może nastąpić podczas okresu wzrostu rośliny na polu uprawnym [28]. Toksyny T-2 oraz HT-2 występują głównie w zbożach i przetworzonych produktach zbożowych [29].

Toksyny T-2 oraz HT-2 (pozbawiona grupy acetylowej forma toksyny T-2) mogą działać cytotoksycznie oraz indukować stres oksydacyjny u zwierząt [30, 31]. Toksyna T-2 może upośledzać syntezę białek, indukować apoptozę komórek oraz ujawniać działanie hematotoksyczne, powiązane z zaburzeniem erytropoezy w szpiku kostnym [32]. Długotrwałe narażenie na niskie stężenia toksyny T-2 może powodować zakłócenie funkcjonowania układu odpornościowego poprzez upośledzenie produkcji przeciwciał oraz zahamowanie odpowiedzi zapalnych w obecności bakterii oraz wirusów [12]. Ekspozycja może zachodzić w sposób kontaktowy, przezskórnie, drogą pokarmową oraz wziewnie [33]. Efekty toksyczne mogą ujawniać się, opóźniając wzrost, wzmagając utratę masy ciała, powodując biegunkę oraz zmiany martwicze po kontakcie z toksyną [31].

Spożywanie produktów o wysokim potencjale przeciwutleniającym uważa się za czynnik minimalizujący skutki ekspozycji na toksynę T-2. Komórki organizmu chronione są przed skutkami stresu oksydacyjnego, wywołanego przez mykotoksyny m.in. dzięki neutralizacji wolnych rodników przez substancje antyoksydacyjne zawarte w pożywieniu-Bibliografia[30].



Rycina 1. Potencjalne działanie toksyn T-2 oraz HT-2 na organizm człowieka oraz możliwa droga zakażenia

TDI ustalone dla sumy toksyn T-2 oraz HT-2, wynoszące 0,1 µg/kg masy ciała, ma na celu ochronę przed pojawieniem się objawów toksyczności [32]. Nie wyznaczono jednak limitu maksymalnych wartości toksyn znajdujących się w surowcach spożywczych.

PODSUMOWANIE

Zanieczyszczenie żywności mykotoksynami stanowi istotny problem w przetwórstwie żywności, który może mieć poważne konsekwencje zdrowotne związane m.in. z ich działaniem karcynogennym, cytotoksycznym oraz nasilonym stresem oksydacyjnym i stanem zapalnym. Przeciwdziałanie wytworzeniu metabolitów wtórnych grzybów oraz zmniejszenie ich biodostępności daje szansę na zapewnienie bezpieczeństwa mikologicznego żywności. Słuszne wydaje się również ustanowienie norm określających dopuszczalny poziom toksyn pochodzenia grzybiczego dla szerszej grupy produktów spożywczych.

Finansowanie

Projekt finansowany w ramach programu ministra nauki i szkolnictwa wyższego pod nazwą „REGIONALNA INICJATYWA DOSKONAŁOŚCI”, w latach 2019–2022. Nr projektu 002/ RID/2020/21 kwota finansowania 12 000 000 zł.

PIŚMIENNICTWO

- Calvo AM, Cary JW. Association of fungal secondary metabolism and sclerotial biology. *Front Microbiol.* 2015; 6. doi: 10.3389/fmicb.2015.00062
- Grintzalis K, Vernardis SI, Klapa MI, et al. Role of Oxidative Stress in Sclerotial Differentiation and Aflatoxin B1 Biosynthesis in *Aspergillus flavus*. *Appl Environ Microbiol.* 2014; 80: 5561–71.
- Mruczyk K, Jeszka J. Porównanie zawartości ochratoxyny A (OTA) i zearalenonu (ZEA) w produktach zbożowych z upraw ekologicznych i konwencjonalnych. *Nauka Przyroda Technologie Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu.* 2013; 07.
- Bills GF, Gloer JB. Biologically Active Secondary Metabolites from the Fungi. *Microbiol Spectr.* 2016; 4. doi: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0009-2016.
- Marin S, Ramos AJ, Cano-Sancho G, et al. Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food Chem Toxicol.* 2013; 60: 218–37.
- Chunmei J, Junling S, Qi'an H, et al. Occurrence of toxin-producing fungi in intact and rotten table and wine grapes and related influencing factors. *Food Control.* 2013; 31: 5–13.
- Gil L, Ruiz P, Font G, et al. An overview of the applications of hazards analysis and critical control point (HACCP) system to mycotoxins. *Revista de Toxicología.* 2016; 33: 50–5.
- Rai A, Das M, Tripathi A. Occurrence and toxicity of a fusarium mycotoxin, zearalenone. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 2020; 60: 2710–29.
- Gruber-Dorninger C, Novak B, Nagl V, et al. Emerging Mycotoxins: Beyond Traditionally Determined Food Contaminants. *J Agric Food Chem.* 2017; 65: 7052–70.
- Degen GH. [Mycotoxins in food: Occurrence, importance and health risk]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz.* 2017; 60: 745–56.
- Čolović R, Puvača N, Cheli F, et al. Decontamination of Mycotoxin-Contaminated Feedstuffs and Compound Feed. *Toxins (Basel).* 2019; 11. doi: 10.3390/toxins11110617
- Adhikari M, Negi B, Kaushik N, et al. T-2 mycotoxin: toxicological effects and decontamination strategies. *Oncotarget.* 2017; 8: 33933–52.
- Liew W-P-P, Mohd-Redzwan S. Mycotoxin: Its Impact on Gut Health and Microbiota. *Front Cell Infect Microbiol.* 2018; 8. doi: 10.3389/fcimb.2018.00060
- Klarić MŠ, Rašić D, Peraica M. Deleterious Effects of Mycotoxin Combinations Involving Ochratoxin A. *Toxins (Basel).* 2013; 5: 1965–87.
- Organization WH, Cancer IA for R on. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. *IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans.* 1993; 56.
- Malir F, Ostry V, Pfohl-Leschkowicz A, et al. Ochratoxin A: 50 Years of Research. *Toxins (Basel).* 2016; 8. doi: 10.3390/toxins8070191
- Heussner AH, Bingle LEH. Comparative Ochratoxin Toxicity: A Review of the Available Data. *Toxins (Basel).* 2015; 7: 4253–82.
- Piotrowska M, Masek A. *Saccharomyces Cerevisiae* Cell Wall Components as Tools for Ochratoxin A Decontamination. *Toxins.* 2015; 7: 1151–62.
- Tao Y, Xie S, Xu F, et al. Ochratoxin A: Toxicity, oxidative stress and metabolism. *Food Chem Toxicol.* 2018; 112: 320–31.
- Zhang H, Apaliya MT, Mahunu GK, et al. Control of ochratoxin A-producing fungi in grape berry by microbial antagonists: A review. *Trends in Food Science & Technology.* 2016; 51: 88–97.
- Wang Y, Wang L, Liu F, et al. Ochratoxin A Producing Fungi, Biosynthetic Pathway and Regulatory Mechanisms. *Toxins (Basel).* 2016; 8. doi: 10.3390/toxins8030083
- Kószegi T, Poór M. Ochratoxin A: Molecular Interactions, Mechanisms of Toxicity and Prevention at the Molecular Level. *Toxins (Basel).* 2016; 8. doi: 10.3390/toxins8040111
- Poór M, Veres B, Jakus PB, et al. Flavonoid diosmetin increases ATP levels in kidney cells and relieves ATP depleting effect of ochratoxin A. *J Photochem Photobiol B, Biol.* 2014; 132: 1–9.
- Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (Text with EEA relevance). *OJ L.* 2006; 364.
- Statement on recent scientific information on the toxicity of Ochratoxin A. *EFSA Journal.* 2010; 8: 1626.
- Statement on the risks for public health related to a possible increase of the maximum level of deoxynivalenol for certain semi-processed cereal products. *EFSA Journal.* 2013; 11: 3490.
- Knutsen HK, Alexander J, Barregård L, et al. Risks to human and animal health related to the presence of deoxynivalenol and its acetylated and modified forms in food and feed. *EFSA Journal.* 2017; 15: e04718.
- Liang H, Wang X, Yan J, et al. Characterizing the Intra-Vineyard Variation of Soil Bacterial and Fungal Communities. *Front Microbiol.* 2019; 10. doi: 10.3389/fmicb.2019.01239
- Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of T-2 and HT-2 toxin in food and feed. *EFSA Journal.* 2011; 9: 2481.
- Yang L, Tu D, Wang N, et al. The protective effects of DL-Selenomethionine against T-2/HT-2 toxins-induced cytotoxicity and oxidative stress in broiler hepatocytes. *Toxicol In Vitro.* 2019; 54: 137–46.
- Nathanail AV, Varga E, Meng-Reiterer J, et al. Metabolism of the Fusarium Mycotoxins T-2 Toxin and HT-2 Toxin in Wheat. *J Agric Food Chem.* 2015; 63: 7862–72.
- Human and animal dietary exposure to T-2 and HT-2 toxin. *European Food Safety Authority.* 2017.
- Dai C, Xiao X, Sun F, et al. T-2 toxin neurotoxicity: role of oxidative stress and mitochondrial dysfunction. *Arch Toxicol.* 2019; 93: 3041–56.