



PREGLEDNI RAD - SCIENTIFIC REVIEW

Utjecaj postupaka prerade na transformaciju i smanjenje koncentracije mikotoksina u određenim skupinama hrane*Effect of processing on the transformation and reduction of mycotoxins in the certain food categories*Jelka Pleadin¹, Jadranka Frece², Ksenija Markov^{2*}¹Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta 143, 10 000 Zagreb, Hrvatska²Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Pierottijeva 6, 10 000 Zagreb, Hrvatska

*Corresponding author: ksenija.markov@pbf.hr

Sažetak

Onečišćenje namirnica mikotoksinima predstavlja ozbiljnu prijetnju ljudskome zdravlju, napose kada je riječ o namirnicama koje se učestalo koriste u prehrani, a ujedno predstavljaju i značajan izvor mikotoksina. Postupcima prerade hrane može se postići smanjenje količine mikotoksina, njihova razgradnja, eliminacija ili transformacija u manje toksične derivate, ali potpuno uklanjanje mikotoksina iz prehrambenog lanca putem prerade je teško postići. Primjeni tehnika uklanjanja mikotoksina treba prethoditi utvrđivanje kemijskog sastava i toksičnosti nastalih produkta reakcije. U nedostatku potrebnih toksikoloških podataka, za oblike mikotoksina koji nastaju tijekom prerade hrane, treba pretpostaviti da imaju istu razinu toksičnosti, istu biološku raspoloživost i isti karcinogeni potencijal kao i izvorni spojevi. Prioritet za razvoj metoda smanjenja ili uklanjanja trebaju imati mikotoksini nepoželjnoga toksikološkoga profila koji se učestalo i u visokim koncentracijama pojavljuju u često konzumiranim namirnicama. Krajnji cilj primjene ovih metoda je sprječavanje štetnih učinaka mikotoksina po zdravlje potrošača kao posljedice izlaganja onečišćivačima iz hrane, pri čemu treba sačuvati hranjiva i organoleptička svojstva, kako sirovina, tako i gotovih proizvoda.

Ključne riječi: prerada hrane, mikotoksini, prevencija, uklanjanje, smanjenje**Summary**

Contamination of food by mycotoxins represent a serious threat to human health, especially when it comes to food that is very frequently used in the diet, but also represent a significant source of mycotoxins. The reduction of mycotoxins by procedures of food processing can be achieved by its degradation, elimination or transformation into less toxic derivatives, although complete elimination of mycotoxins from the food chain through processing is difficult to achieve. Techniques for elimination of mycotoxins should be preceded by the determination of the chemical composition and toxicity of resulting reaction product. In the absence of the necessary toxicological data, for the forms of mycotoxins that are produced during the processing of food is assumed to have the same level of toxicity, the same bioavailability and the same carcinogenic potential as the original compounds. Priority for the development of elimination methods should have mycotoxins with undesirable toxicological profiles that are frequently and in high concentrations occur in often consumed foods. The ultimate goal of the application of these methods is to prevent the harmful effects of mycotoxins to the health of consumers as a result of exposure to food contaminants, taking care to preserve nutrient and organoleptic properties of raw materials as also of finished products.

Keywords: food processing, mycotoxins, prevention, elimination, reduction**Uvod**

Mikotoksini kao sekundarni metaboliti plijesni jedni su od najtoksičnijih onečišćivača hrane koji uzrokuju značajne gubitke tijekom procesa njene proizvodnje i skladištenja. Glavni izvor mikotoksina predstavljaju različite vrste žitarice i proizvodi na bazi žitarica, začini, sušeno voće, orašasti plodovi, kava, čajevi te proizvodi životinjskog podrijetla i brojne druge namirnice. Do onečišćenja može doći već na poljoprivrednoj površini, odnosno polju, te nadalje tijekom transporta i skladi-

štenja sirovina i gotovih proizvoda. Poznato je da mikotoksine proizvode mnoge plijesni, najčešće predstavnici iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* ili *Claviceps*. Sa stajališta toksičnosti i pojavnosti, među kojima najvažnije mikotoksine predstavljaju aflatoksini B₁, B₂, G₁ i G₂ (AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂), okratoksin A (OTA), citrinin (CTN), zearalenon (ZEN), fumonizini B₁, B₂ i B₃ (FB₁, FB₂, FB₃), deoksinivalenol (DON) i drugi trihoteceni, patulin (PAT) i ergot alkaloidi (EA).

Onečišćenje mikotoksinima predstavlja ozbiljnu prijetnju ljudskome zdravlju, napose kada je riječ o namirnicama

koje čine temelj ljudske prehrane. Zbog činjenice da prisutnost plijesni i/ili mikotoksina u hrani može biti opasna po ljudsko zdravlje i predstavljati gospodarski problem širokih razmjera, sve je veći naglasak na razvoj metoda uklanjanja mikotoksina kako bi se omogućila proizvodnja zdravstveno ispravne hrane (Pleadin i sur., 2014a). Metode nadzora nad zdravstvenom ispravnosti hrane u ovom području moguće je svrstati u dvije kategorije: (i) metode sprječavanja onečišćenja plijesnima i rasta plijesni te (ii) metode uklanjanja mikotoksina odnosno smanjenja onečišćenja (Mishra i Das, 2003).

Primijenjena metoda treba učinkovito inaktivirati ili u potpunosti ukloniti mikotoksin, ne narušavajući pritom nutritivna i tehnološka svojstva proizvoda i ne stvarajući reaktivne toksične produkte. Učinkovito smanjenje izlaganja mikotoksina putem prehrambenih proizvoda iziskuje korištenje brojnih raspoloživih tehnologija, od primjerenih postupaka uzgoja i skladištenja te odabira sirovina pogodnih za ljudsku konzumaciju, do primjene i kombiniranja različitih postupaka u tehnološkom procesu prerade hrane. Razvoj novih metoda uklanjanja mikotoksina iziskuje opsežan istraživački rad, primarno stoga što pri tom treba utvrditi utjecaj primijenjenih postupaka na hranjive tvari i organoleptička svojstva hrane, kao i utjecaj na druge onečišćivače koji mogu biti prisutni u sirovinama ili gotovom proizvodu (Anese i sur., 2009).

Pri određivanju prioriteta tijekom istraživanja treba se rukovoditi: (i) učestalošću konzumacije onečišćene namirnice, odnosno voditi računa o tome radi li se o osnovnim namirnicama i da li ih konzumiraju osjetljive populacijske skupine, primjerice mala djeca; (ii) koncentracijama u kojima su toksini u namirnicama prisutni, primarno o namirnicama u kojima su utvrđene visoke razine onečišćenja; (iii) o mikotoksinima nepovoljnoga toksikološkoga profila te (iv) raznolikosti zemljopisnih područja i ciljnih potrošačkih skupina. Ujedno, nove metode fizikalnog i kemijskog tretmana hrane (hladna plazma) i agensi kao što su mikroorganizmi ili pročišćeni enzimi, koje se planira koristiti u svrhu uklanjanja mikotoksina u hrani, moraju biti odobreni od strane zakonodavnih tijela, što implicira potrebu analize rizika (Karlovsky i sur., 2016). Stoga se radi na donošenju smjernica u identifikaciji najznačajnijih vrsta hrane koje je potrebno podvrgnuti postupcima smanjenja odnosno uklanjanja mikotoksina te procjeni rizika kao posljedice izlaganja mikotoksinima (van der Fels-Klerx i sur., 2014).

U ovom radu dan je pregled primjene konvencionalnih metoda prerade hrane usmjerenih na uklanjanje ili smanjenje količine mikotoksina, bazirajući se na učestalo zastupljenim vrstama hrane u ljudskoj prehrani, a za koje je poznato da su izložene onečišćenju različitim mikotoksinima.

Prevenција i uklanjanje mikotoksina

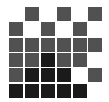
Štetne učinke mikotoksina moguće je izbjeći sprječavanjem onečišćenja sirovina, odstranjivanjem onečišćenog materijala iz namirnice i smanjenjem količine mikotoksina u hrani (Karlovsky i sur., 2016). Kada su u pitanju žitarice kao najizloženija kategorija hrane, glavni prioritet predstavlja sprječavanje njihova onečišćenja mikotoksinima izravno na poljoprivrednoj površini (prije žetve), nakon žetve (tijekom transporta i skladištenja) te tijekom skladištenja. Tvorbu mikotoksina na polju moguće je smanjiti nizom postupaka, npr. uzgojem ot-

pornih sorti, prevrtanjem usjeva, preoravanjem tla, kemijskim i biološkim metodama kontrole bolesti bilja te kontrolom nad prisutnošću kukaca (Alberts i sur., 2016). Primjereni uvjeti žetve i skladištenja od ključnog su značaja za sprječavanje rasta plijesni i akumulacije mikotoksina na obranim usjevima. Međutim, poznato je i da mjere poduzete prije žetve ipak ne jamče da u hrani ili krmivu neće biti mikotoksina.

Na prisutnost i količinu mikotoksina u sirovinama može se utjecati postupcima prerade hrane, i to (i) korištenjem fizikalnih metoda; (ii) kemijskom transformacijom koja može rezultirati nastankom manje toksičnih metabolita ili pak metabolita toksičnijih od izvornoga spoja; (iii) otpuštanjem mikotoksina koji su do tada bili prisutni u nekom "maskiranom" obliku ili su na neki način bili vezani u sirovinama, čime se povećava njihovu biološku raspoloživost; (iv) enzimskom biotransformacijom te (v) adsorpcijom na krute površine. Fizikalni i kemijski mehanizmi uklanjanja mikotoksina u hrani obično združeno djeluju u istoj fazi procesa prerade hrane (tablica 1) (Karlovsky i sur., 2016). Primjerice, sumporni dioksid koji se koristi u mokroj preradi kukuruznoga zrnja kako bi se olakšalo odijeljivanje klica, bjelančevina i škroba, ima i kemijski potencijal uklanjanja mikotoksina.

Dokazano je da se smanjenje količine odnosno uklanjanje mikotoksina može postići postupcima kao što su čišćenje, ljuštenje, mljevenje, vrenje ili fermentacija, kuhanje, pečenje, prženje, kuhanje u alkalnoj otopini te prešanje. Koncentracije nekih mikotoksina moguće je značajno smanjiti, dok su pojedini, npr. DON, relativno otporni na razgradnju. Učinkovito uklanjanje mikotoksina mora biti ireverzibilno, modificirani oblici mikotoksina moraju biti podložni željenim promjenama jednako kao i izvorni spojevi, proizvodi moraju biti netoksični, a hrana treba zadržati svoju hranidbenu vrijednost i organoleptička svojstva (Milani i Maleki, 2014). Postupci prerade, agensi i mikroorganizmi koje se u ove svrhe koriste moraju biti odobreni za uporabu u hrani. Uredbom Europske komisije 2015/786 definirani su kriteriji prihvatljivosti postupaka uklanjanja koje se primjenjuje na krmiva (EC, 2015).

Prednosti smanjenja količine mikotoksina treba odvagati u odnosu na mogući gubitak materijala i/ili hranjivih tvari kojima ovakvi postupci mogu rezultirati. Uklanjanje mikotoksina fizikalnim metodama uključuje ekstrakciju pomoću otapala, adsorpciju te toplinsko uklanjanje ili uklanjanje ozračivanjem. Razine mikotoksina u uskladištenim namirnicama moguće je smanjiti fizikalnim metodama kao što su sortiranje, flotacija i sortiranje prema gustoći, blanširanje i prženje. U posljednje vrijeme ozračivanje hrane postaje metoda široke komercijalne primjene kojom se postiže uklanjanje različitih onečišćivača. Gama zračenje sa svrhom sterilizacije je postupak prolaska energije velike prodorne moći kroz različite materijale, koje pri tom uzrokuje izravno oštećenje DNA putem ionizacije te nastanak mutacija i smrt pojedinih stanica. U literaturi se mogu naći brojna izvješća o povećanom, smanjenom ili pak nepromijenjenom intenzitetu sinteze mikotoksina nakon ozračivanja plijesni u različitim uvjetima (Domijan i sur., 2015). Stručni odbor FAO/IAEA/WHO ukazao je da ozračivanje bilo koje hrane prosječnom ukupnom dozom do 10 kGy, s toksikološkog, nutritivnog odnosno mikrobiološkog stajališta ne predstavlja opasnost za ljudsko zdravlje (WHO, 1991) te je Europska zajednica 1999. godine odobrila ovu dozu kao maksimalnu prosječnu dozu koju ozračen hrana smije apsorbirati.



Uporaba kemikalija u svrhu uklanjanja različitih mikotoksina, primarno najtoksičnijih aflatoksina, uključuje propionsku kiselinu, amonijak, bakreni sulfat, benzojevu kiselinu, limunsku kiselinu i neke druge kemijske spojeve koji reagiraju s aflatoksinima (Gowda i sur., 2004). Ovi spojevi prevode mikotoksine u manje toksične i mutagene spojeve, kakvi su kiseline, lužine, oksidansi, bisulfiti i plinovi. Amonizacija je jedini proces kemijske inaktivacije koji se pokazao učinkovitim u uklanjanju mikotoksina i to AFB₁ u sjemenu pamuka i

pogači od pamukova sjemena, kikirikiju i pogači od kikirikija te kukuruzu (Park i Price, 2001). Kemijske metode u načelu se smatraju nepraktičnim i nepoželjnim, zbog uvjeta tlaka i temperature pri kojima se reakcije provode, škodljivosti uslijed stvaranja toksičnih ostataka i negativnog utjecaja na nutritivna, organoleptička i funkcionalna svojstva proizvoda, te su do danas odobrene isključivo za korištenje u svrhu smanjenja prisutnosti AFB₁ u krmivima (Rustom, 1997).

Tablica 1. Primjena fizikalnih i kemijskih metoda prerade hrane u uklanjanju ili smanjenju količine mikotoksina (Karlovsky i sur., 2016)

Table 1. The use of physical and chemical methods of food processing in the elimination or reduction of mycotoxins (Karlovsky et al., 2016)

Materijal	Mikotoksin	Sortiranje	Prosjijavanje	Flotacija	Pranje	Ljuštenje	Namakanje	Mljevenje	Zagrijavanje	UV zračenje	γ zračenje	Plazma	Kiseline	Lužine	Oksidacija	Redukcija	Amonizacija
Žitarice	Trihoteceni																
	Ergot alkaloidi																
	Okratoksin A																
	Zearalenon																
Kukuruz	Trihoteceni																
	Okratoksin A																
	Aflatoksini																
	Fumonizini																
	Zearalenon																
Jabuke	Patulin																
Grejp	Okratoksin A																
Zrna kaka	Okratoksin A																
	Aflatoksini																
Zrna kave	Okratoksin A																
	Aflatoksini																

	Nije moguće/nekompatibilno sa sirovinom
	Djelomično uspješno/znanstveno utemeljeno
	Eksperimentalno utvrđeno
	Nema dovoljno informacija/nije prikladno

Istraživanja mogućnosti uklanjanja mikotoksina mikrobnim kulturama i njihovim staničnim komponentama nameću se kao moguća alternativa postojećim fizikalnim i kemijskim metodama. Mnogi mikroorganizmi, uključujući bakterije, kvasce, plijesni, aktinomicete i alge mogu ukloniti ili smanjiti količine mikotoksina u hrani i krmivu (Shetty i Jespersen, 2006; Markov i sur., 2010; Patharajan i sur., 2010; Mc Cormick, 2013; Pleadin i sur., 2014a) ali je u većini slučajeva mehanizam njihova djelovanja ostao nepoznat. Među tim potencijalnim mikroorganizmima, bakterije mliječne kiseline (BMK) i kvasci, posebno, *Saccharomyces cerevisiae* predstavljaju jedinstvenu skupinu koja se naširoko koristi u proizvodnji i oču-

vanju fermentiranih proizvoda, a mogu ukloniti mikotoksine iz hrane bilo da ih vežu na površinu stanice, bilo da ih transformiraju u manje toksične produkte (Styriak, i Concova, 2002; Piotrowska i Masek, 2015). Većina objavljenih radova usmjerena je na uklanjanje/vezanje AFB₁ s pomoću BMK i bakterijom *Flavobacterium aurantiacum* (Smiley i Draughon, 2000; Haskard, i sur., 2001), međutim sve više istraživanja dokazuje da mnogi kvasci i sojevi BMK mogu ukloniti ili degradirati i ostale mikotoksine kao što su OTA, PAT, ZEN, DON, fumonizine (Shetty i Jespersen, 2006; Fuchs i sur, 2008).

Transformacija mikotoksina

Učinkovitost metoda uklanjanja mikotoksina ovisi o brojnim parametrima, primjerice o svojstvima hrane, sastavu i sadržaju vode te o razini onečišćenja. Međutim, jedinstvena metoda, ujedno djelotvorna za sve materijale, ipak ne postoji. Važno je istaknuti da postupak obrade u svrhu uklanjanja i/ili

smanjenja količine izvornog mikotoksina nužno ne podrazumijeva njegovu nedjelotvornost u organizmu. Naime, ukoliko se toksin konvertira u oblik koji više nije detektibilan, moguće je da isti i nadalje ostaje toksičan. Mehanizam transformacije mikotoksina često nije u potpunosti razjašnjen, produkti nisu okarakterizirani, a njihova biološka raspoloživost i toksičnost u usporedbi sa izvornim spojem nije utvrđena. Toksikološka istraživanja uglavnom su svedena na istraživanja *in vitro* te istraživanja akutne toksičnosti *in vivo*, a podaci o toksičnim učincima uslijed kroničnoga izlaganja niskim dozama toksina nisu dostatni. Za nove metodološke alate koji se koriste u suvremenoj toksikologiji vjeruje se da će pomoći pri identifikaciji produkata pretvorbe ili razgradnje ovih onečišćivača u hrani (Schilter i sur., 2014). Bez spomenutih spoznaja, te iz predostrožnosti, procjenu rizika valja temeljiti na pretpostavci da svi metabolički oblici mikotoksina imaju istu biološku raspoloživost i toksičnost kao i izvorni spoj (EFSA, 2014).

Kemijski i fizikalni procesi obrade hrane mogu dovesti do otpuštanja mikotoksina iz „maskiranih“ oblika i time ih učiniti biološki raspoloživima, odnosno konvertirati mikotoksine u oblike koji konvencionalnim analitičkim metodama nisu detektibilni, a da pri tom zadrže svoj toksični potencijal ili pospješe plijesni koje su prisutne na namirnici da produciraju mikotoksine (Suman i Generotti, 2015). Stoga je potrebno razviti analitičke metode koje mogu detektirati mikotoksine koji se u procesu prerade hrane mogu transformirati u različite oblike. Veći dio istraživanja o mikotoksinima usmjeren je na mikotoksine čije su najveće dopuštene količine zakonski regulirane. No nedavno neočekivano otkriće plijesni *Stachybotrys chartarum* u bilju koje se koristi u kulinarstvu (Biermaier i sur., 2015) ukazuje na to da spektar istraživanja valja proširiti. *S. chartarum*, do sada poglavito poznata kao plijesan koja kolonizira vlagom oštećene zidove, stvara makrocikličke trihotecene čija je toksičnost veća od toksičnosti ijednog toksina do sada pokrivenog zakonskim odredbama. Visokotoksični metaboliti plijesni *Stenocarpella maydis*, nedavno otkriveni u zrnju kukuruza, još su jedan primjer toksikološki relevantnih mikotoksina čija prisutnost u hrani nije regulirana postojećim zakonodavstvom. Sekvencioniranje genoma razotkrilo je da svaka od plijesni koje onečišćuju namirnice može proizvesti 30-60 sekundarnih metabolita, od kojih su neki izvjesno i mikotoksini. Stoga, jednom kada se utvrdi toksičnost mikotoksina i količine u namirnicama, sljedeći korak predstavlja razvoj strategija njegovog uklanjanja (Karlovsy i sur., 2016).

Žitarice i proizvodi na bazi žitarica

Žitarice kao što su kukuruz, pšenica, ječam i zob značajno su zastupljene ne samo u prehrani ljudi već su od značaja i za industrijsku preradu hrane i hrane za životinje. Konzumacija žitarica uravnotežuje prehranu osiguravajući unošenje niskog udjela masti te daje niz drugih prednosti, prvenstveno ukoliko se zrnje žitarica konzumira neolušteno. Međutim, Organizacija za hranu i poljoprivredu (FAO; eng. Food and Agriculture Organization) procijenila je da je, na globalnoj razini, 25% usjeva u konačnici namijenjenih prehrani ljudi ili hranidbi životinja onečišćeno mikotoksinima. Zbog učestale pojavnosti visokih koncentracija mikotoksina na površinskim djelovima zrnja žitarica, primjenom sortiranja, čišćenja i ljuštenja, u brašnu se postižu manje količine mikotoksina, a značajne količine ovih onečišćivača moguće je odstraniti i uklanjanjem ošteće-

nog zrnja i prašine (Cheli i sur., 2013). Postupci čišćenja žitarica pokazali su se učinkovitim u redukciji aflatoksina, DON-a, T-2 i HT-2 toksina te fumonizina (Scudamore i Patel, 2000; Saunders i sur., 2001; Lancova i sur., 2008a; Schwake-Anduschus i sur., 2010).

Količinu aflatoksina moguće je smanjiti potapanjem žitarica u pojedina otapala, kao što su organske kiseline, te kuhanjem i zagrijavanjem (Samarajeewa i sur., 1990). Mikotoksini bivaju prisutni u vodi u kojoj su žitarice namakane i prane (Dombrink-Kurtzman i sur., 2000). Uobičajeno kuhanje riže onečišćene sa AFB₁ ishodilo je smanjenjem sadržaja mikotoksina od 34%, dok je kuhanjem pod tlakom (ekspres lonac) taj sadržaj smanjen za više od 70% (Park i Kim, 2006). Kada je riječ o tjestenini, razinu redukcije mikotoksina određuje njegova topivost u kipućoj vodi. Viscontiju i sur. (2004) su utvrdili da glavina DON-a iz tjestenine prelazi u vodu u kojoj se tjestenina kuhala. Brera i sur. (2013) uočili su da u krupici sadržanoj u sirovoj tjestenini dolazi do smanjenja količine DON-a od 8%, a u krupici sadržanoj u kuhanoj tjestenini od 41%.

Učinkovitost smanjenja sadržaja aflatoksina putem ekstruzije ovisi o prisutnosti aditiva, razini vlage te primijenjenoj temperaturi i tlaku, a učinkovitost koju je moguće postići kreće se od 50 do 80%. Srodni rezultati dobiveni su za smanjenje udjela OTA u pekarskim proizvodima (Scudamore i sur., 2004). Utvrđena je i učinkovitost ozračivanja žitarica gama zračenjem i elektronskim snopom u smanjenju sadržaja trihotecena u zrnju žitarica, a DON i 3-acetil-DON učinkovitije su uništeni u vodenoj otopini negoli u ljuskama kukuruznoga zrnja (O'Neill i sur., 1993). EA prisutni u žitaricama privlače sve veću pažnju nadležnih tijela zaduženih za zdravstvenu ispravnost hrane (EFSA, 2012). Smanjenje sklerocija za do 80% moguće je postići vijanjem koje prethodi mljevenju, što u konačnici isходи značajnijim smanjenjem količine EA (Berg i sur., 1995). U nedugo provedenom istraživanju o redukciji ovih mikotoksina u keksima, izviješteno je o njihovoj razgradnji i epimerizaciji u manje toksične oblike za do 30% (Merkel i sur., 2012).

Istraživanja redukcije mikotoksina tijekom pečenja rezultirala su proturječnim zaključcima. Dok je u jednom istraživanju redukcije postupkom pečenja kruha uočeno smanjenje sadržaja DON-a za više od 50% (Voss i Snook, 2010), drugi su autori izvijestili da pečenje nije imalo nikakvog utjecaja na koncentracije DON-a (Lancova i sur., 2008a). Tijekom procesa fermentacije tijesta OTA je ostao stabilan, dok je tijekom procesa pripreme od mase za tijesto do fermentiranoga tijesta koncentracija DON-a postupno rasla, a potom opala tijekom pečenja (Vidal i sur., 2014). Bergamini i sur. (2010) su potvrdili da količina DON-a tijekom pečenja opada u proizvodima kao što su kruh, dvopek i krekeri. Ključni čimbenici o kojima je ovisila učinkovitost smanjenja količine DON-a bili su trajanje pečenja (8 - 16 min) i temperatura na kojoj se proces odvijao (180 - 210 °C). Cano-Sancho i sur. (2013) utvrdili su da ZEN tijekom pečenja kruha ostaje stabilan, dok je u drugom istraživanju procijenjeno da se pečenjem njegova količina u kruhu smanjuje za otprilike 40%, a u keksima za 20% (Alldrick i Hajšelova, 2004). Tijekom pečenja kruha dolazi do razgradnje toksina T-2 i HT-2 za 20-30% (Monaci i sur., 2011). U istraživanju Scott i Lawrence (1994) određeno je značajno smanjenje koncentracije fumonizina u zagrijanom kukuruzu dok u novijem istraživanju nije utvrđeno značajno smanjenje sadržaja DON-a, ZEN-a i fumonizina u kukuruznoj krupici (Numanoglu i sur., 2010).



Mlijeko i mliječni proizvodi

Sušni uvjeti i visoke temperature tijekom rasta i berbe žitarica, primarno kukuruza, potiču rast *Aspergillus* vrsta te time i produkciju AFB₁. U brojnim zemljama svijeta utvrđeno je onečišćenje mliječnih proizvoda mikotoksinima, a problem se temelji na činjenici da se u mlijeku životinja hranjenih krmivom onečišćenom sa AFB₁ može nalaziti njegov metabolički produkt AFM₁ (Coffey i sur., 2009, Markov i sur., 2010). Genetički inženjering i razvoj hibridnih sorti otpornih na infekciju različitim sojevima plijesni iz roda *Aspergillus* vjerojatno predstavljaju nove načine smanjenja onečišćenja žitarica aflatoksinima u razdoblju prije žetve, te posljedično i smanjenja onečišćenja mlijeka sa AFM₁.

Prevenciju pojavnosti AFM₁ u mlijeku i mliječnim proizvodima potrebno je osigurati kontrolom nad usjevima podložnih onečišćenju sa AFB₁ u razdoblju nakon žetve. Potrebno je osigurati kontrolu nad čimbenicima koji utječu na rast plijesni, primjerice, nad udjelom i aktivnošću vode, temperaturom okoline, plinovima u atmosferi te uporabom insekticida ili konzervansa. Pri skladištenju zrnja žitarica pozornost je poglavito potrebno usmjeriti na održavanje a_w vode na razini nižoj od one koja pospješuje rast plijesni. Rizik od oštećenja zaštitne ovojnice i posljedičnog stvaranja AFB₁ moguće je smanjiti ubiranjem samo onih usjeva u čijem zrnju sadržaj vlage iznosi približno 24% (Prandini i sur., 2009). Istraživanja pokazuju da pojedini dodaci hrani za životinje, kao što su Na-bentonit, zeolit i sepiolit, mogu učinkovito smanjiti ili spriječiti toksičnost uzrokovanu kontaminacijom hrane za životinje sa AFB₁ (Jaynes i Zartman, 2011).

Imajući u vidu tvorbu AFM₁ iz AFB₁ u mlijeku i mliječnim proizvodima, sa stajališta ljudskoga zdravlja najstroži kriterij za AFB₁ primjenjuje se na krmiva namijenjenim ishrani muzne stoke. Istraživanja pokazuju da je u sirutki određena otprilike četiri puta veća koncentracija AFM₁ u odnosu na mlijeko, dok je u siru tijekom zrenja (tradicionalni sirevi iz Brazila - *Brazilian* i *Minas frescal*) koncentracija ovog mikotoksina bila niža. Međutim, u određenim vrstama sira, koncentracija AFM₁ u siru bila je veća od one u neobranom mlijeku (Bakiri, 2001). Fermentacija mlijeka u jogurt pri pH 4,6 smanjila je koncentraciju AFM₁ za 13%, a fermentacija pri pH 4,0 za 22%. Nakon pohrane, smanjenje koncentracije AFM₁ iznosilo je 16%, odnosno 34% (Govaris i sur., 2002). U suprotnosti s ovim rezultatima, Yousef i Marth (1989) izvijestili su da je AFM₁ u fermentiranome mlijeku ostao stabilan.

Meso i mesni proizvodi

Uobičajeni onečišćivači fermentiranih i suhomesnatih proizvoda su mikotoksini OTA, AFB₁ i CTN, od kojih je OTA najviše zastupljen. Prisutnost navedenih mikotoksina utvrđena je u mesnim proizvodima proizvedenim od onečišćenih sirovina ili tijekom proizvodnje i čuvanja u neprikladnim uvjetima, a značajna razina OTA određena je u trajnim kobasicama i suhomesnatim proizvodima (Markov i sur., 2013; Pleadin i sur., 2015a). Za brojne mediteranske mesne proizvode uobičajeno je da se zrenje odvija na način da površinu trajnih mesnih proizvoda obrastaju plijesni roda *Penicillium* i *Aspergillus*, koje pri povoljnim uvjetima temperature, aktiviteta vode, oštećenja ovitka ili površinskih pukotina, kao i u određenim uvjetima skladištenja, proizvode mikotoksine (Pleadin i sur., 2015b).

Tijekom proizvodnog postupka onečišćenju proizvoda

mikotoksinima doprinosi nestandardiziranost kvalitete i tehnologije proizvodnje, problemi tijekom zrenja zbog nekorištenja automatiziranih komora za zrenje zaštićenih od onečišćenja sporama plijesni iz okoline (posebno u pogonima lociranim u ruralnom prostoru zbog blizine polja pod kulturama kukuruza, pšenice i sl.), onečišćeno meso kao sirovina (putem stočne hrane) i začini, onečišćenje uslijed rasta toksikotvornih plijesni na površini proizvoda te nemogućnost uklanjanja mikotoksina standardnim tehnološkim postupcima proizvodnje i konzerviranja (Pleadin i sur., 2015a). Rezultati istraživanja pokazuju da tehnološki procesi poput termičke obrade, fermentacije, soljenja i salamurenja, sušenja, zrenja, dimljenja i skladištenja, nemaju značajnoga utjecaja na smanjenje razine ovih izrazito opasnih toksina u gotovim mesnim proizvodima. Istraživanja su također ukazala i na potrebu očuvanja ovitka u svim fazama proizvodnoga procesa te na potrebu kontinuiranoga odstranjivanja plijesni s površina proizvoda, sve u cilju smanjenja rizika od onečišćenja gotovoga proizvoda mikotoksinima (Pleadin i sur., 2014c; Pleadin i sur., 2015a).

Podaci ukazuju na visoku stabilnost OTA i AFB₁ nakon primjene različitih metoda toplinske obrade u mesu i mesnim proizvodima (Bullerman i Bianchini, 2007; Domijan i sur., 2015). Istraživanja u području uklanjanja mikotoksina u mesu i mesnim proizvodima uglavnom se odnose na uklanjanje OTA, koji je pokazao izrazitu stabilnost čak i pri visokim temperaturama i utjecaju kiselina, što ukazuje na to da jednom kada su namirnice onečišćene, ovaj mikotoksin je vrlo teško ukloniti. Okratoksini su termostabilni spojevi te procesi kuhanja ne utječu na smanjenje njihove koncentracije u mesu i mesnim proizvodima, dok procesi pečenja i prženja mogu rezultirati smanjenjem koncentracije za oko 20%. Međutim, degradacija OTA uočena je kod izloženosti fluorescentnom svjetlu te kod niskog sadržaja vode kada se proizvod tretira natrijevim hipokloritom (NaOCl) (Khoury i Atoui, 2010). Stupanj do kojeg se mikotoksini u mesnim proizvodima mogu uništiti ovisi o parametrima kao što su pH, temperatura, prisutnost drugih sastojaka te metode obrade koje se primjenjuju.

Kakao i proizvodi na bazi kakaa

Kakao se primarno koristi kao sirovina u proizvodnji čokolade, a način skladištenja i uvjeti prerade koji vladaju u proizvodnim područjima (zapadnoj Africi, Aziji i Latinskoj Americi) često uzrokuju onečišćenje plijesni koje proizvode mikotoksine (Copetti i sur., 2014). Turcotte i sur. (2013) izvijestili su da su OTA i AFB₁ značajni onečišćivači kakaa te da njihova koncentracija tijekom proizvodnje progresivno opada, počevši od kakao mase, preko čokolade za kuhanje i tamne čokolade, pa do mliječne čokolade. Pojavnost ovih mikotoksina u kakao maslacu nije utvrđena. U procesu prerade sjemenki kakaa u listiće čokolade u gotovom proizvodu mogu zaostati tek zanemarive koncentracije OTA i aflatoxina. Ujedno, proizvodnja čokolade uključuje i dodavanje drugih sastojaka (npr. mliječnih proizvoda i šećera), čime se dodatno smanjuje udio mikotoksina u gotovoj namirnici.

Prva faza prerade kakaa podrazumijeva otvaranje ubranih plodova na samom poljoprivrednom dobru, a zrnje se potom fermentira prirodnim putem pomoću kvasaca i bakterija. Pokusi provedeni u Brazilu pokazali su značaj organskih kiselina koje proizvode bakterije u supresiji rasta plijesni koje

moгу proizvesti OTA (Copetti i sur., 2012). Fermentirano zrnje se potom suši na suncu odloženo na drvene platforme ili na tlu. U prijelaznom razdoblju između fermentacije i sušenja zrnja razina OTA značajno raste (Dano i sur., 2013) te sušenje stoga mora biti što kraće. U pogonima za preradu osušeno zrnje se lomi i vija kako bi se dobile oljuštene sjemenke (komadiće kakaa), a komadići se potom steriliziraju parom i izravno prže bez ili sa dodatkom lužina do postizanja konačnog okusa i boje. Temperatura pri kojoj se proces odvija doseže 100 - 120 °C, proces traje 15 - 70 minuta, a u fazi prerade OTA se ne razgrađuje u značajnoj mjeri (Mounjouenpou i sur., 2012; Copetti i sur., 2013). Prženje sjemenki kakaa na temperaturi od 250 °C kroz 15 minuta smanjilo je sadržaj aflatoksina do 71% (Mendez-Albores i sur., 2013). Razine mikotoksina u alkaliziranom kakao prahu imaju tendenciju smanjenja (Copetti i sur., 2011), primarno po pitanju količine aflatoksina. Rezultati Mendez-Albores i sur. (2013) pokazali su da nakon termičke alkalizacije u kakao masi dolazi do smanjenja sadržaja aflatoksina za do 98%. OTA se koncentrira u ljuskama sjemenki te se ljuštenjem količina OTA smanjuje za 50 - 100% (Amezqueta i sur., 2005).

Kava i voćni sokovi

Kava predstavlja rizik za pojavnost mikotoksina primarno zbog prisutnosti plijesni iz rodova *Aspergillus* i *Penicillium*. Zrnje zelene kave poznato je po učestalom onečišćenju sa OTA, kojeg ove plijesni produciraju tijekom skladištenja i transporta (Magan i Aldred, 2005). Scudamore (2005) je istraživao učinak kuhanja kave na razinu OTA, pri čemu su utvrđene značajno manje razine ovog mikotoksina. U zrnima pržene i mljevene kave nađeno je tek 16% količine ovoga toksina, prethodno određenog u sirovim zrnima zelene kave (Blanc i sur., 1998). Milanez (1996) je izvjestio o 84%-om smanjenju količine OTA u prerađenim zrnima kave, a smanjenje razina OTA koje su utvrdili drugi istraživači bilo je značajno manje (Leoni i sur., 2000).

PAT je pronađen primarno u sokovima od jabuke, kruške i grožđa proizvedenim od plodova zahvaćenih smeđom truleži. Jabuke i sok od jabuka predstavljaju najvažniji izvor namirnica onečišćenih s PAT u ljudskoj prehrani, a posebno sokovi koji se proizvode prešanjem svježih jabuka. Ostali voćni sokovi također mogu biti potencijalni izvor ovog mikotoksina ako su pomiješani sa sokom od jabuka. Najznačajniji producent PAT je plijesan *Penicillium expansum* koja je čest uzročnik bolesti koja se pojavljuje na jabukama nakon berbe (gnjiljenje, truljenje), odnosno tijekom skladištenja. Intenzitet biosinteze ovog mikotoksina ovisi o sljedećim okolišnim i endogenim čimbenicima: a_w vrijednost, temperatura, pH, stanje atmosfere (%-tni udio O_2 i CO_2). Najznačajniji postupak u procesu smanjenja razina PAT-a u proizvodima od jabuka jest odabir neoštećenih i odstranjivanje trulih jabuka. Nekoliko je istraživanja pokazalo da je ovaj mikotoksin stabilan općenito u kiselkastim sokovima (Moss i Long, 2002). Termička obrada utječe na umjereno smanjenje njegovih razina, a održiv je nakon procesa pasteurizacije sokova. Poznato je da se alkoholnom fermentacijom PAT transformira u manje toksični askladiol te da reagira sa sulfhidrilnim (tiolnim) skupinama bjelančevina, polipeptida i aminokiselina koje se nalaze u određenim vrstama namirnica, a rezultat te reakcije jest stvaranje unakrsnih veza unutar i među molekulama (Karlovsy i sur., 2016).

Sušeno voće, orašasti plodovi i začini

Uzgoj i prerada suhog voća, poput smokava, grožđica, marelica i datulja, karakteristična za toplu klimatska područja, povećava rizik od onečišćenja mikotoksinima, posebno sa aflatoksinima i OTA. Vrijednosti pH sušenog voća, koje se kreće u rasponu od 2,5 do 5,0, najvažniji je čimbenik koji utječe na njegovo truljenje izazvano mikroorganizmima. Tijekom zrenja, kada pH raste, a obložni slojevi omekšavaju, voće postaje podložnije rastu plijesni i onečišćenju mikotoksinima. Drugi čimbenici koji utječu na pojavnost mikotoksina su uvjeti u vrijeme berbe i sušenja voća te sadržaj vode u njemu, a mehaničko čišćenje i prebiranje voća može ishoditi značajnim smanjenjem onečišćenja.

Kada je riječ o kikirikiju, više razine aflatoksina mogu se naći u malim, nedozrelim plodovima, a uklanjanje ovakvih plodova značajno smanjuje njegovu koncentraciju (Whitaker i sur., 2005). U svrhu uklanjanja stranih primjesa i plodova bez ljuske, plodove u ljusci podvrgava se gravitacijskoj separaciji, koje je potom moguće odvojiti po veličini i prosijavanjem kroz niz sita, uz izdvajanje manjih plodova kao primarnih izvora aflatoksina. Nadalje, kod različitih orašastih plodova, primjerice pistacija, smanjenje razine aflatoksina može se postići blanširanjem u kombinaciji sa spektrometrijskim sortiranjem koje se temelji na specifičnim obojenim reakcijama te sortiranjem pomoću infracrvene i UV spektroskopije (Durmus i Kalkan, 2016).

Najzahtjevniji tretman od svog sušenog voća zahtijevaju smokve (Karlovsy i sur., 2016). Uklanjanje oštećenoga voća, sušenje na suncu, fluorescentno sortiranje i tretman sumpornim dioksidom učinkovite su strategije redukcije mikotoksina u ovom sušenom voću (Scott i Trucksess, 2009). Sušenje smokava na suncu česta je praksa u tropskim krajevima, no kako je proces spor, ostavlja dovoljno vremena za proliferaciju plijesni koje proizvode mikotoksine. Ozay i sur. (1995) pokazali su da namakanje smokava u otopinu metabisulfitu ili sorbata, odnosno vruću vodu, nakon kojega slijedi sušenje voća, smanjuje nastanak plijesni i količinu aflatoksina. Usporedba učinkovitosti sušenja na suncu s drugim načinima sušenja pokazala je da je najučinkovitiji način suzbijanja onečišćenja tretman ultrazvukom kombiniran s primjenom osmotskih otopina (Villalobos i sur., 2016).

Nedavno je izviješteno o primjeni hladne atmosferske plazme u svrhu razgradnje aflatoksina u oljuštenim lješnjacima, čime je u roku od 12 minuta postignuto smanjenje koncentracije aflatoksina od preko 70%. U drugom istraživanju utvrđeno je da se prženjem pistacija u limunovom soku i/ili limunskoj kiselini postiže razgradnja AFB₁ od preko 90% (Rastegar i sur., 2016). O učincima prerade na razine mikotoksina u začinima nedostaje literaturnih podataka, a izviješteno je tek o umjerenom smanjenju količine OTA i aflatoksina u papru nakon ozračivanja gama zrakama (Jalili i sur., 2012).

Biljna ulja

Jestiva biljna ulja moguće je ekstrahirati iz masnih materijala bilo mehaničkim prešanjem, bilo otapalima. Raspodjela mikotoksina se tijekom postupka mokroga mljevenja može naći u različitim frakcijama kukuruza, od onoga namočenoga pa do kukuruznih klica, ovisi o topivosti mikotoksina kojima je kukuruz onečišćen. Vodotopivi mikotoksini poput DON-a u visokim su koncentracijama nađeni u tekućini u kojoj je kuku-



ruz namakan, no njihove razine utvrđene u krutim frakcijama (klica, vlakno i gluten) bile su niske. ZEN koji je slabo topiv u vodi može biti prisutan u ulju od kukuruznih klica, no istraživanja u ovom području su doista malobrojna (Karlovsky i sur., 2016).

Objavljeni podaci pojedinih autora govore o učestalom onečišćenju jestivih biljnih ulja aflatoksinima (Bordin i sur., 2014). Suprotno tome, određeno je da iz kikirikija i klica pamuka u sirovo ulje prelazi tek 10-20% aflatoksina (Abalaka i Elegbede, 1982). Utvrđeno je da se mikotoksine iz ulja može ukloniti rafiniranjem utemeljenim na neutralizaciji lužinama, bijeljenju i dezodorizaciji (Kamimura i sur., 1986). Autori su ispitivali učinkovitost pojedinih faza rafiniranja biljnih ulja onečišćenih mikotoksini i uočili da su nakon tretmana natrijevim hidroksidom razine AFB₁ i AFB₂ značajno opale, pri čemu su DON i NIV bili prisutni tek u tragovima, a AFG₁ i AFG₂ posve eliminirani. Ovi rezultati potvrdili su ranija saznanja Parkera i Melnicka (1966) da natrijev hidroksid učinkovito uklanja aflatoksine iz ulja kikirikija, a tretmanom kukuruznih klica lužinama pri pH 9-10 razine ZEN-a moguće je smanjiti do onih koje ne izazivaju zabrinutost za zdravstvenu ispravnost namirnice.

Parker i Melnick (1966) su utvrdili da se u ulju kikirikija i kukuruznom ulju razine aflatoksina bijeljenjem smanjuju ispod 1 µg/L, a ova metoda se temelji na uporabi adsorptivnoga izbjeljivača koji se naziva kaolin ili glina. Postupak se odvija u vakuumskim uvjetima i pri visokoj temperaturi, a agens se potom uklanja filtracijom. Kamimura i sur. (1986) su izvijestili da se bijeljenjem biljnoga ulja eliminira trihotecena i aflatoksine, ali ne i ZEN. Posljednja faza postupka rafiniranja jest dezodorizacija, koja predrazumijeva destilacijski proces koji se odvija uz pomoć vodene pare pri visokoj temperaturi (220-270 °C) i niskome tlaku (0,1-0,7 kPa). Uvjeti pod kojima se odvija proces dezodorizacije mogu dovesti do potpunoga uklanjanja aflatoksina iz biljnih ulja, kako su to na primjeru umjetno onečišćenih biljnih ulja pokazali Kamimura i sur. (1986). Na isti su način smanjene i razine trihotecena i ZEN-a. Stoga se može zaključiti da je, pod uvjetom da ga se pravilno preradi, zdravstvenu ispravnost jestivoga ulja po pitanju mikotoksina moguće postići.

Alkoholi

Podaci pokazuju da proces industrijske fermentacije ne dovodi do razgradnje aflatoksina te da se obično aflatoksini koncentriraju u tropu. Kada se onečišćeni proizvod koristi u procesu fermentacije, važno je utvrditi u koju će svrhu onečišćeni nusprodukti u konačnici biti upotrijebljeni (Pleadin i sur., 2014a). Literaturni podaci pokazuju da tijekom postupka proizvodnje piva većina mikotoksina može opstati i biti prisutna u gotovom proizvodu te da je u najvišim koncentracijama prisutan DON. Međutim, Lancova i sur. (2008b) izvijestili su o još većim količinama DON-a prisutnim u pivu u obliku DON-3-glukozida. Schwartz i sur. (1995) utvrdili su da tijekom proizvodnje piva u fazi klijanja ječma raste kako koncentracija ZEN-a, tako i koncentracija 15-acetil-DON-a. U pivu je nađeno 80 - 93% DON-a iz žitnoga slada, dok je tropu nađeno 60% ZEN-a i 1% 15-acetil-DON-a. Scott i Lawrence (1995) su utvrdili da i OTA i fumonizini mogu onečistiti pivo. U istraživanju Inoue i sur. (2013) ispitivana je održivost 14 različitih

mikotoksina tijekom procesa vrenja piva. Nakon vrenja, razine aflatoksina, OTA, FB₂, PAT i ZEN smanjile za više od 20% u odnosu na početnu koncentraciju, ZEN i PAT su se metabolizirali u manje toksične spojeve, a koncentracija trihotecena je u konačnici bila veća za 50% u odnosu na njihovu početnu koncentraciju.

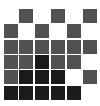
U postupku u kojemu nakon fermentacije slijedi destilacija alkohola mikotoksini nisu bili prisutni u alkoholnoj frakciji, ali njihova koncentracija u proizvodu od tropa može biti. Nakon kuhanja i fermentacije onečišćenog kukuruza i pšenice, koncentracija AFB₁ bila je smanjena za 47%, iako je nakon destilacije koncentracija u krutim frakcijama bila viša nego u netretiranom zrnju. Nakon fermentacije, u etanolu se nije odredio ZEN otpušten iz onečišćenog kukuruza, no njegova koncentracija u krutim frakcijama se udvostručila. Pri proizvodnji etanola fermentirane su dvije šarže kukuruza onečišćenog sa FB₁, prisutnim u koncentraciji od 15 te 36 mg/kg, a analiza produkata pokazala je da se tijekom fermentacije razgradila tek neznatna količina ovog mikotoksina (Bothast i sur., 1992).

Zaključci

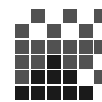
Pojedine fizikalne metode koje se koriste u preradi hrane dokazale su učinkovitost u uklanjanju mikotoksina, ujedno predstavljajući jedine metode trenutno primjenjive na hrani namijenjenoj za ljudsku konzumaciju. Nekoliko kemijskih i bioloških metoda odobreno je za primjenu isključivo na krmivima. Strategija uklanjanja mikotoksina i nadalje je u eksperimentalnoj fazi razvoja, a prije odobravanja primjene nove tehnike potrebno je utvrditi kemijski sastav i toksičnost produkta reakcije. U nedostatku odgovarajućih toksikoloških podataka za oblike mikotoksina koji se stvaraju tijekom prerade hrane treba pretpostaviti da imaju istu toksičnost, istu biološku raspoloživost i isti karcinogeni potencijal kao i izvorni spojevi, a pri razvoju metoda uklanjanja prioritet trebaju imati mikotoksini nepoželjnoga toksikološkoga profila koji se učestalo i u značajnim koncentracijama javljaju u vrlo konzumiranim vrstama namirnicama. Krajnji cilj uklanjanja ili smanjenja količine mikotoksina je sprječavanje štetnih učinaka po zdravlje potrošača koje može biti posljedica izlaganja ovim tvarima putem hrane, pri čemu treba sačuvati hranidbena i organoleptička svojstva hrane.

Literatura

- Abalaka J.A., Elegbede J.A. (1982) Aflatoxin distribution and total microbial counts in an edible oil extracting plant. Preliminary observations. *Food and Chemical Toxicology*, 20, 43-46.
- Alberts J.F., van Zyl W.H., Gelderblom W.C.A. (2016) Biologically based methods for control of fumonisin-producing *Fusarium* species and reduction of the fumonisins. *Frontiers in Microbiology*, 7, 548.
- Alldrick A.J., Hajšelová M. (2004) Zearalenone. U: Magan N., Olsen M. (ed.), *Mycotoxins in food: detection and control*, 1st edition. CRC Woodhead, Cambridge, 353-362.
- Amezqueta S., Gonzalez-Penas E., Murillo M., Lopez de



- Cerain A. (2005) Occurrence of OTA in cocoa beans: effect of shelling. *Food Additives and Contaminants*, 22, 590–596.
- Anese M., Suman M., Nicoli M.C. (2009) Technological strategies to reduce acrylamide levels in heated foods. *Food Engineering Reviews*, 1, 169–179.
- Bakiri I. (2001) A study on the occurrence of aflatoxin M1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey. *Food Control*, 12, 47–51.
- Berg T., Rasmussen G., Thorup I. (1995) Mycotoxins in Danish foods. National Food Agency of Health, Soborg.
- Bergamini E., Catellani D., Dall'Asta C., Galaverna G., Dossena A., Marchelli R., Suman M. (2010) Fate of *Fusarium* mycotoxins in the cereal product supply chain: the deoxynivalenol (DON) case within industrial bread-making technology. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 27, 677–687.
- Biermaier B., Gottschalk C., Schwaiger K., Gareis M. (2015) Occurrence of *Stachybotrys chartarum* chemotype S in dried culinary herbs. *Mycotoxin Research*, 31, 23–32.
- Blanc M., Pittet A., Munzobox R., Viani R. (1998) Behaviour of ochratoxin A during green coffee roasting and soluble manufacture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 673–675.
- Bordin K., Sawada M.M., Rodrigues C.E.C., da Fonseca C.R., Oliveira C.A.F. (2014) Incidence of aflatoxins in oil seeds and possible transfer to oil: a review. *Food Engineering Reviews*, 6, 20–28.
- Bothast R.J., Bennett G.A., Vancauwenberge J.E., Richard J.L. (1992) Fate of fumonisin B1 in naturally contaminated corn during ethanol fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 58, 233–236.
- Brera C., Peduto A., Debegnach F., Pannunzi E., Prantera E., Gregori E., De Giacomo M., De Santis B. (2013) Study of the influence of the milling process on the distribution of Deoxynivalenol content from the caryopsis to cooked pasta. *Food Control*, 32, 309–312.
- Bullerman L.B., Bianchini A. (2007) Stability of mycotoxins during food processing. *International Journal of Food Microbiology*, 119, 140–146.
- Cano-Sancho G., Sanchis V., Ramos A.J., Marín S. (2013) Effect of food processing on exposure assessment studies with mycotoxins. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 30, 867–875.
- Cheli F., Pinotti L., Rossi L., Dell'Orto V. (2013) Effect of milling procedures on mycotoxin distribution in wheat fractions: a review. *LWT Food Science Technology*, 54, 307–314.
- Coffey R., Cummins E., Ward S. (2009) Exposure assessment of mycotoxins in dairy milk. *Food Control*, 20, 239–249.
- Copetti M.V., Iamanaka B.T., Nester M.A., Efraim P., Taniwaki M.H. (2013) Occurrence of OTA in cocoa by-products and determination of its reduction during chocolate manufacture. *Food Chemistry*, 136, 100–104.
- Copetti M.V., Iamanaka B.T., Pereira J.L., Frisvad J.C., Taniwaki M.H. (2011) Mycobiota of cocoa: from farm to chocolate. *Food Microbiology*, 28, 1499–1504.
- Copetti M.V., Iamanaka B.T., Pereira J.L., Frisvad J.C., Taniwaki M.H. (2012) The effect of cocoa fermentation and weak organic acids on growth and OTA production by *Aspergillus* species. *International Journal of Food Microbiology*, 155, 158–164.
- Copetti M.V., Iamanaka B.T., Pitt J.I., Taniwaki M.H. (2014) Fungi and mycotoxins in cocoa: from farm to chocolate. *International Journal of Food Microbiology*, 178, 13–20.
- Dano S.D., Manda P., Dembélé A., Kouassi Aba A.M., Bibaud J.H., Gouet J.Z., Bruno C., Sika C.M.Z.M. (2013) Influence of fermentation and drying materials on the contamination of cocoa beans by ochratoxin A. *Toxins*, 5, 2310–2323.
- Dombrink-Kurtzman M.A., Dvorak T.J., Barron M.E., Rooney L.W. (2000) Effect of nixtamalization (alkaline cooking) on fumonisin contaminated corn for production of masa and tortillas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 5781–5786.
- Domijan A.-M., Pleadin J., Mihaljević B., Vahčić N., Frece, J., Markov K. (2015) Reduction of ochratoxin A in dry-cured meat products using gamma irradiation. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 32, 1185–1191.
- Durmus E., Kalkan H. (2016) Detection of aflatoxin and surface mould contaminated figs by using Fourier-transform near-infrared (FTNIR) reflectance spectroscopy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97, 317–323.
- EC, European Commission (2015) Regulation 2015/786 defining acceptability criteria for detoxification processes applied to products intended for animal feed. *Official Journal of the European Union*, 125, 10–14.
- EFSA, European Food Safety Authority Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) (2014) EFSA scientific opinion on the risks for human and animal health related to the presence of modified forms of certain mycotoxins in food and feed. *EFSA Journal*, 12, 3916.
- EFSA, European Food Safety Authority Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) (2012) EFSA scientific opinion on ergot alkaloids in food and feed. *EFSA Journal*, 10, 2798.
- Fuchs, S., Sontag, G., Stidl, R., Ehrlich, V., Kundi, M., Knasmüller, S. (2008). Detoxification of patulin and ochratoxin A, two abundant mycotoxins, by lactic acid bacteria. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 1398–1407.
- Govaris A., Roussi V., Koidis P.A., Botsoglou N.A.A. (2001) Distribution and stability of aflatoxin M1 during processing, ripening, and storage of Teleme cheese. *Food Additives and Contaminants*, 18, 437–443.
- Gowda N.K.S., Malathi V., Suganthi R.U. (2004) Effect of some chemical and herbal compounds on growth of *Aspergillus parasiticus* and aflatoxin production. *Animal Feed Science and Technology*, 116, 281–291.
- Haskard C.A., El-Nezami H.S., Kankaanpää P.E., Salmiinen S., Ahokas J.T. (2001). Surface binding of aflatoxin B(1) by lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 3086–3091.
- Inoue T., Nagatomi Y., Uyama A., Mochizuki N. (2013) Fate of mycotoxins during beer brewing and fermentation. *Biotechnology, Biotechnology and Biochemistry*, 77, 1410–1415.
- Jalili M., Jinap S., Noranizan M.A. (2012) Aflatoxins and ochratoxin a reduction in black and white pepper by gamma radiation. *Radiation Physics and Chemistry*, 81, 1786–1788.
- Jaynes W.F., Zartman R.E. (2011) Aflatoxin toxicity reduction in feed by enhanced binding to surface-modified clay additives. *Toxins*, 3, 551–565.
- Kamimura L.M., Nishijima M., Tabata S., Yasuda K., Ushiyama H., Nishima J.J. (1986) Survey of mycotoxin contami-



nation on edible oil and fate on mycotoxin during oil-refining processes. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, 27, 59–63.

Karlovsky P., Suman M., Berthiller F., De Meester J., Eisenbrand G., Perrin I., Oswald, I.P., Speijers G., Chiodini A., Recker T., Dussort P. (2016) Impact of food processing and detoxification treatments on mycotoxin contamination. *Mycotoxin Research*, 32, 179-205.

Khoury E.A., Atoui A. (2010) Ochratoxin A: General overview and actual molecular status. *Toxins*, 2, 461-493.

Lancova K., Hajslova J., Kostelanska M., Kohoutkova J., Nedelnik J., Moravcova H., Vanova M. (2008a) Fate of trichothecene mycotoxins during the processing: milling and baking. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 25, 650–659.

Lancova K., Hajslova J., Poustka J., Krplova A., Zachariasova M., Dostalek P., Sachambula L. (2008b) Transfer of fusarium mycotoxins and „masked“ deoxynivalenol (deoxynivalenol-3-glucoside) from field barley through malt to beer. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 25, 732–744.

Leoni L.A., Soares L.M., Oliveira P.L. (2000) Ochratoxin A in Brazilian roasted and instant coffees. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 17, 867–870.

Magan N., Aldred D. (2005) Conditions of formation of OTA in drying, transport and in different commodities. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 1, 10–16.

Markov K., Frece J., Čvek D., Lovrić N., Delaš F. (2010) Aflatoxin M1 u sirovom mlijeku, *Mljekarstvo* 60 (4), 244-251.

Markov K., Pleadin J., Bevardi M., Vahčić N., Sokolić-Mihalek D., Frece J. (2013) Natural occurrence of aflatoxin B₁, ochratoxin A and citrinin in Croatian fermented meat products. *Food Control*, 34, 312-317.

Mc Cormick S.P. (2013) Microbial detoxification of mycotoxins. *Journal of Chemical Ecology* 39 (7), 907-918.

Mendez-Albores A., Campos-Agular A.Z., Moreno-Martinez E., Vazquez Duran A. (2013) Physical and chemical degradation of B-aflatoxins during the roasting and dutching of cocoa liquor. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15, 557–567.

Merkel S., Dib B., Maul R., Köpper R., Koch M., Dehls I. (2012) Degradation and epimerization of ergot alkaloids after baking and *in vitro* digestion. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 404, 2489–2497.

Milanez M.F.F.L. (1996) The effect of cooking on ochratoxin A content of beans, variety carioca. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 13, 89–93.

Milani J., Maleki G. (2014) Effects of processing on mycotoxin stability in cereals. *Journal of Food Science and Agriculture*, 94, 2372–2375.

Mishra H.N., Das C. (2003) A review on biological control and metabolism of aflatoxin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(3), 245–264.

Monaci L., De Angelis E., Visconti A.J. (2011) Determination of deoxynivalenol, T-2 and HT-2 toxins in a bread model food by liquid chromatography-high resolution-Orbitrap-mass spectrometry equipped with a high-energy collision dissociation cell. *Journal of Chromatography A*, 1218, 8646–8654.

Moss M.O., Long M.T. (2002) Fate of patulin in the presence of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 19, 387–399.

Mounjouenpou P., Mbang J.A., Guyot B., Guiraud J.P. (2012) Traditional procedures of cocoa processing and occurrence of ochratoxin A in the derived products. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4, 1332–1339.

Numanoglu E., Uygun U., Koksel H., Solfrizzo M. (2010) Stability of *Fusarium* toxins during traditional Turkish maize bread production. *Quality Assurance And Safety of Crops & Foods*, 2, 84–92.

O'Neill K., Damoglou A.P., Patterson M.F. (1993) The stability of deoxynivalenol and 3-acetyl deoxynivalenol to gamma irradiation. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 10, 209–215.

Ozay G., Aran N., Pala M. (1995) Influence of harvesting and drying techniques on microflora and mycotoxin contamination of figs. *Nahrung*, 2, 156–165.

Park D.L., Price W.D. (2001) Reduction of aflatoxin hazards using ammoniation. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 171, 139–175.

Park J.W., Kim Y.B. (2006) Effect of pressure cooking on aflatoxin B₁ in rice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 2431–2435.

Parker W.A., Melnick D. (1966) Absence of aflatoxin from refined vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 43, 635–638.

Patharajan S, Reddy KRN, Karthikeyan V, Spadaro D, Gullino ML, Garibaldi A. (2011) Potential of yeast antagonists on *in vitro* biodegradation of ochratoxin A. *Food Control*, 22, 290-296.

Piotrowska M., Masek A. (2015) *Saccharomyces cerevisiae* Cell Wall Components as Tools for Ochratoxin A Decontamination. *Toxins*, 7, 1151-1162

Pleadin J., Kovačević D., Perši N. (2015b) Ochratoxin A contamination of the autochthonous dry-cured meat product “Slavonski Kulen” during a six-month production process. *Food Control*, 57, 377-384.

Pleadin J., Malenica Staver M., Vahčić N., Kovačević D., Milone S., Saftić L., Scortichini G. (2015a) Survey of aflatoxin B₁ and ochratoxin A occurrence in traditional meat products coming from Croatian households and markets. *Food Control*, 52, 71-77.

Pleadin J., Frece J., Markov K. (2014a) Aflatoxini - One-čišćenje, učinci i metode redukcije. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 9(3-4), 75-82.

Pleadin J., Markov K., Frece J., Vulić A., Perši N. (2014b) Bio-Prevalence, determination and reduction of aflatoxin B₁ in cereals. U: Faulkner A.G. (ed.), *Aflatoxins: Food Sources, Occurrence and Toxicological Effects*, Nova Science Publishers, USA, 1-34.

Pleadin J., Perši N., Kovačević D., Vulić A., Frece J., Markov K. (2014c) Ochratoxin A reduction in meat sausages using processing methods practiced in households. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 7, 239-246.

Prandini A., Tansini G., Sigolo S., Filippi L., Laporta M., Piva G. (2009) On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 984-991.

Rastegar H., Shoeibi S., Yazdanpanah H., Amirahmadi M., Khaneghah A.M., Campagnollo F.B., Sant'Ana A. (2016) Removal of aflatoxin B₁ by roasting with lemon juice and/or citric acid in contaminated pistachio nuts. *Food Control*, 71, 279–284.



- Rustom I.Y.S. (1997) Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chemistry*, 59, 57-67.
- Samarajeewa U., Sen A.C., Cohen M.D., Wei C.I. (1990) Detoxification of aflatoxins in foods and feeds by physical and chemical methods. *Journal of Food Protection*, 53, 489-501.
- Saunders D., Meredith F., Voss K. (2001) Control of fumonisin: effects of processing. *Environmental Health Perspectives*, 109, 333-336.
- Schilter B., Benigni R., Boobis A., Chiodini A., Cockburn A., Cronin M.T., Lo Piparo E., Modi S., Thiel A., Worth A. (2014) Establishing the level of safety concern for chemicals in food without the need for toxicity testing. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 68, 275-296.
- Schwake-Anduschus C., Langenkämper G., Unbehend G., Dietrich R., Märthlbauer E., Münzing K. (2010) Occurrence of *Fusarium* T-2 and HT-2 toxins in oats from cultivar studies in Germany and degradation of the toxins during grain cleaning treatment and food processing. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 27, 1253-1260.
- Schwartz H.E., Hametner C., Slavik V., Greitbauer O., Bichl G., Kunz-Vekiru E., Schatzmayr D., Berthiller F. (2013) Characterization of three deoxynivalenol sulfonates formed by reaction of deoxynivalenol with sulfur reagents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 8941-8948.
- Scott P.M., Lawrence G.A. (1994) Stability and problems in recovery of fumonisins added to corn-based foods. *Journal of AOAC International*, 77, 541-545.
- Scott P.M., Lawrence G.A. (1995) Analysis of beer for fumonisins. *Journal of Food Protection*, 58, 1379-1382.
- Scott P.M., Trucksess M.W. (2009) Prevention of mycotoxins in dried fruit, other fruit products, and botanicals. *ACS Symposium Series*, 1031, 17-35.
- Scudamore K.A. (2005) Prevention of ochratoxins A in commodities and likely effects of processing fractionation and animal feeds. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 1, 17-25.
- Scudamore K.A., Banks J.N., Guy R.C.E. (2004) Fate of ochratoxin A in the processing of whole wheat grain during extrusion. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 21, 488-497.
- Scudamore K.A., Patel S. (2000) Survey for aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone and fumonisins in maize imported into the United Kingdom. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 17, 407-416.
- Shetty PH, Jespersen L. (2006) *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontamination agents. *Trends in Food Science and Technology*, 17, 48-55.
- Smiley R.D., Draughon F.A. (2000) Preliminary evidence that degradation of aflatoxin B1 by *Flavobacterium aurantiacum* is enzymatic. *Journal of Food Protection*, 63(3), 415-8.
- Styriak, I., Concova, E. (2002). Microbial binding and biodegradation of mycotoxins. *Veterinary and human toxicology*, 44, 358-361.
- Suman M., Generotti S. (2015) Transformation of mycotoxins upon food processing: masking, binding and degradation phenomena. U: Dall'Asta C., Berthiller F. (ed.) *Masked mycotoxins in food: formation, occurrence and toxicological relevance*. RSC Publishing, Cambridge, 73-89.
- Turcotte A.M., Scott P.M., Tague B. (2013) Analysis of cocoa products for OTA and aflatoxins. *Mycotoxin Research*, 29, 193-201.
- van der Fels-Klerx H.J., Edwards S.G., Kennedy M.C., O'Hagan S., O'Mahony C., Scholz G., Steinberg P., Chiodini A. (2014) A framework to determine the effectiveness of dietary exposure mitigation to chemical contaminants. *Food and Chemical Toxicology*, 74, 360-371.
- Vidal A., Marín S., Morales H., Ramos A.J., Sanchis V. (2014) The fate of deoxynivalenol and ochratoxin A during the breadmaking process, effects of sourdough use and bran content. *Food and Chemical Toxicology*, 68, 53-60.
- Villalobos M.C., Serradilla M.J., Martín A., Pereira C., López-Corrales M., Córdoba M.G. (2016) Evaluation of different drying systems as an alternative to sun drying for figs. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 36, 156-165.
- Visconti A., Haidukowski E.M., Pascale M., Silvestri M. (2004) Reduction of deoxynivalenol during durum wheat processing and spaghetti cooking. *Toxicology Letters*, 153, 181-189.
- Whitaker T.B., Dorner J.W., Lamb M., Slate A.B. (2005) The effect of sorting farmers' stock peanuts by size and color on partitioning aflatoxin into various shelled peanut grade sizes. *Peanut Science*, 32, 103-118.
- WHO (1991) Food Irradiation. A technique for preserving and improving the safety of food. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Yousef A.E., Marth E.H. (1989) Stability and degradation of aflatoxin M₁. U: Egmond H.P. (ed.), *Mycotoxins in dairy products*. Elsevier, London, 127-162.