



PREGLEDNI RAD

Primjena fizikalnih i kemijskih metoda u uklanjanju mikotoksina iz hrane i hrane za životinje

Jelka Pleadin¹, Maja Kiš², Jadranka Frece³, Ksenija Markov^{3*}¹ Hrvatski veterinarski institut, Savska cesta 143, 10 000 Zagreb, Hrvatska² Hrvatski veterinarski institut, Veterinarski zavod Križevci, Zakmardijeva 10, 48 260 Križevci, Hrvatska³ Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Pierottijeva 6, 10 000 Zagreb, Hrvatska

* Corresponding author: ksenija.markov@pbf.hr

Sažetak

Mikotoksini su sekundarni metaboliti plijesni koji predstavljaju značajan problem u području sigurnosti hrane te predstavljaju rizik za zdravlje te dobrobit ljudi i životinja. Učinkovitost metoda uklanjanja mikotoksina iz hrane i hrane za životinje, primarno žitarica kao najviše kontaminirane grupe hrane, ovisi o brojnim parametrima, od kojih su vrlo značajni svojstva onečišćenog materijala, odnosno njegov sastav, primarno sadržaj vode, te razina onečišćenja. Ovaj rad daje pregled fizikalnih i kemijskih metoda koje se manje ili više učinkovito mogu koristiti u tretmanu različitih vrsta hrane i hrane za životinje u cilju redukcije odnosno uklanjanja mikotoksina. Uklanjanje mikotoksina fizikalnim metodom uključuje njihovu ekstrakciju pomoću otapala, adsorpciju te toplinsku inaktivaciju ili inaktivaciju ozračivanjem. Najznačajnije metode su sortiranje po boji i gustoći, ljuštenje i mljevenje, flotacija, blanširanje, prženje, a u posljednje vrijeme vrlo značajna je primjena gama zračenja te hladne plazme. Uporabom kemijskih metoda koje podrazumijevaju primjenu kemikalija dolazi do konverzije mikotoksina u druge manje toksične spojeve, npr. kiseline, lužine, oksidanse, bisulfite i plinove, no moguća je konverzija i u toksičnije spojeve, što je još uvijek predmet brojnih istraživanja. Za razliku od fizikalnih metoda, kemijske metode uklanjanja mikotoksina u načelu se smatraju nepraktičnim i nepoželjnim, zbog uvjeta provedbe, stvaranja toksičnih ostataka te negativnog utjecaja na nutritivna, senzorska i funkcionalna svojstva proizvoda.

Gljučne riječi: mikotoksini, uklanjanje, redukcija, fizikalne metode, kemijske metode, hrana, hrana za životinje

Abstract

Mycotoxins are secondary metabolites of the moulds that pose a significant problem in the field of food safety and risk to the health and well-being of humans and animals. The effectiveness of mycotoxin removal from food and feed, primarily cereals as the most contaminated food group, depends on a number of parameters, of which the properties of the contaminated material, its composition, primary water content and the level of contamination, are the most significant. This manuscript provides an overview of physical and chemical methods that can be used more or less effectively in the treatment of different types of food and feed with the aim of mycotoxins reduction or elimination. Elimination of mycotoxins by physical methods involves their solvent extraction, adsorption and thermal inactivation or irradiation inactivation. The most important methods are color and density sorting, peeling and milling, flotation, blanching, roasting, with the use of gamma radiation and cold plasma is very important in the last period. Implementation of chemical methods involve the use of chemicals in conversion of mycotoxins to other less toxic compounds, e.g. acids, alkalis, oxidants, bisulphites and gases, but conversion to toxic compounds is also possible, and is still the subject of numerous studies. Unlike physical methods, chemical methods of mycotoxins elimination are in principle considered to be impractical and undesirable due to the conditions of implementation, the creation of toxic residues and a negative impact on the nutritional, sensory and functional properties of the product.

Keywords: mycotoxins, elimination, reduction, physical methods, chemical methods, food, feed

Uvod

Žitarice se učestalo koriste za izravnu prehranu ljudi i hranidbu životinja te kao sirovine u prehrambenoj i stočarskoj industriji, a ujedno su najizloženije kontaminaciji toksičnim spojevima mikotoksinima. Mikotoksini su sekundarni metaboliti plijesni koji predstavljaju značajan problem sigurnosti hrane te rizik za zdravlje i dobrobit ljudi i životinja, a negativno utječu i na gospodarstvo diljem svijeta. Najvažnije mikotoksine predstavljaju aflatoksini (AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂, AFM₁), okratoksin A (OTA), citrinin (CIT), zearalenon (ZEN), fumonizini (FB₁, FB₂ i FB₃), deoksinivalenol (DON) T-2 i HT-2, toksini

(T-2/HT-2), patulin (PAT) i ergot alkaloidi (EA) (Pleadin i sur., 2013, 2015, 2017).

U razdoblju prije žetve prikladnim sušenjem zrnja, sortiranjem i skladištenjem moguće je smanjiti količinu mikotoksina u finalnim proizvodima, čime se ograničava rast plijesni odgovornih za produkciju mikotoksina (Karlovsky i sur., 2016). Međutim, ukoliko se kontaminacija ipak dogodi, jedinstvena metoda koja bi bila jednako djelotvorna u uklanjanju mikotoksina u različitim materijalima još uvijek nije pronađena. Učinkovitost metoda uklanjanja ovisi o brojnim parametrima, od kojih su vrlo značajni svojstva proizvoda, odnosno njihov sastav, sadržaj vlage i razina onečišćenja (Pleadin i sur., 2014a,b).

Uklanjanje mikotoksina iz hrane fizikalnim metodama uključuje njihovu ekstrakciju pomoću otapala, adsorpciju te toplinsku inaktivaciju ili inaktivaciju ozračivanjem, a najviše se koristi sortiranje po boji i gustoći, flotacija, blanširanje i prženje. Ozračivanje hrane gama zračenjem koristi se u svrhu sterilizacije, pri čemu energija velike prodorne moći prolazi kroz materijal i pritom uzrokuje izravno oštećenje DNA. U literaturi se mogu naći brojna izvješća o povećanoj ili smanjenoj sintezi mikotoksina nakon ozračivanja plijesni u različitim uvjetima (Domijan i sur., 2015). Stručni odbor Svjetske zdravstvene organizacije (*World Health Organization*) procijenio je da ozračivanje namirnica prosječnom ukupnom dozom do 10 kGy, s toksikološkog, nutritivnog i mikrobiološkog stajališta ne predstavlja opasnost za ljudsko zdravlje (WHO, 1991) te je ova doza odobrena kao najveća prosječna doza koju ozračena hrana smije apsorbirati.

Po pitanju kemijskih metoda za uklanjanje i inaktivaciju mikotoksina u hrani provedena su brojna istraživanja kojima je utvrđeno da tretman hrane kemikalijama nije prikladan, te stoga njihova primjena nije ni odobrena od strane nadležnih zakonodavnih tijela u zemljama Europske unije. Primjenom kemikalija dolazi do konverzije mikotoksina u druge manje toksične spojeve, npr. kiseline, lužine, oksidanse, bisulfite i plinove, no moguća je konverzija i u toksičnije spojeve, što je još uvijek predmet brojnih istraživanja. Nadalje, od ključnoga je značaja da tretman ne degradira nutritivna i senzorska svojstva proizvoda, što se primjenom ovih metoda teško može postići. Uporaba kemikalija u svrhu inaktivacije, vezivanja ili uklanjanja mikotoksina uključuje propionsku kiselinu, amonijak, bakreni sulfat, benzojevu kiselinu, limunsku kiselinu i neke druge kemikalije (Gowda i sur., 2004). Kemijske metode redukcije mikotoksina u načelu se smatraju nepraktičnim i nepoželjnim zbog uvjeta tlaka i temperature pri kojima se reakcije provode, škodljivosti uslijed stvaranja toksičnih ostataka te negativnog utjecaja na nutritivna, senzorska i funkcionalna svojstva proizvoda (Rustom, 1997; Pleadin i sur., 2014a,b). Stoga su kemijske metode do danas odobrene isključivo za korištenje u svrhu uklanjanja izrazito toksičnog mikotoksina AFB₁ i to samo za krmiva. Nedavno definirani kriteriji koji definiraju područje metoda za uklanjanje mikotoksina iz krmiva (EC, 2015) mogu poslužiti kao model za razvijanje zakonskih kriterija koji bi se odnosili i na metode uklanjanja ovih tvari iz hrane.

Fizikalne metode

Sortiranje i prosijavanje

Neobrađene žitarice u rinfuzi često sadrže prašinu i primjese te ispucana i oštećena zrnja. Iako takva zrnja čine svega 3-6 % od ukupne količine, važno je istaknuti da je koncentracija mikotoksina u njima obično najveća (Johansson i sur., 2006). Prva faza prerade poljoprivrednih dobara nakon žetve obično uključuje sortiranje, pranje ili mljevenje (Grenier i sur., 2014). Izvorna metodologija sortiranja podrazumijevala je sortiranje zrnja u rinfuzi korištenjem centrifugalne sile i flotiranja u struji zraka. Potom je uvedeno optičko sortiranje, a načelo na kojem se temelji ova metoda jest usmjeravanje strujanja zrnja uz niz optičkih senzora. Kada detektor detektira zrno koje se svojom bojom razlikuje od drugih, pokreće se magnetski ventil

te dolazi do upuhivanja stlačenog zraka koji odstranjuje takvo zrno iz struje. Suvremeni uređaji za sortiranje mogu u jednome satu sortirati na desetke tona zrnja (Karlovsky i sur., 2016). Kontaminacija zrnja žitarica npr. aflatoksinima obično je heterogeno raspoređena, tako da se izdvajanjem oštećenog zrnja kontaminaciju može učinkovito smanjiti (Kabak i sur., 2006). Međutim, kontaminacija mikotoksinima koja nema vidljivih znakova predstavlja ograničenje dosega metode optičkoga sortiranja kao metode za redukciju odnosno uklanjanje mikotoksina. Ovom spoznajom može se objasniti rezultat istraživanja u kojemu sortiranjem nije postignuto smanjenje sadržaja aflatoksinina (Mutiga i sur., 2014).

Odstranjivanje izrazito pljesnivoga i ispucalog zrnja te prljavštine i pljeve može se postići i čišćenjem putem prosijavanja, uz značajno smanjenje kontaminacije mikotoksinima. Nakon prosijavanja kukuruznoga zrnja kojim se odstranjuje oštećeno zrnje, neoštećeno zrnje sadržava značajno manje mikotoksina u usporedbi s ispucalim. Čestice koje prolaze kroz sito čija okna imaju promjer od 3 mm obično čine 5–20 % mase uzorka (Sydenham i sur., 1994). Odstranjivanjem ispucalog zrnja i manjih fragmenata kontaminacija kukuruza s DON-om i ZEN-om smanjena je za 70–80 %, međutim, time se škartiralo i do 69 % ukupne količine kukuruza. Kada su u pitanju ječam i pšenica, gubici koji prate paralelno smanjenje koncentracije mikotoksina su manji i iznose 34 %, odnosno 55 % (Trenholm i sur., 1991).

Flotiranje i gravitacijska segregacija

Pljesniva zrnja moguće je razdvojiti metodom gravitacijske segregacije ili frakcioniranjem na gravitacijskim pločama (stolovima). Odstranjivanjem dijela kukuruza koji flotira u vodi razine aflatoksinina smanjene su za 60 %, pri čemu je maseni gubitak iznosio 22 %. Korištenjem 30 %-ne otopine saharoze postignuto je smanjenje razine aflatoksinina od 87 %, pri čemu je odbačeno 50 % količine tretirane šarže (Huff, 1980). Flotiranje na površini zasićene otopine natrijeva klorida rezultiralo je smanjenjem ukupnoga sadržaja aflatoksinina u kukuruзу od 74 %, pri čemu je škartirano samo 3 % zrnja. Slično prethodno navedenom, odstranjivanjem zrnja koja su flotirala na vodi i na površini 30 %-ne otopine saharoze, sadržaj DON-a u kukuruзу smanjen je za više od 53 %, a sadržaj DON-a u pšenici za više od 68 %. Istim je postupkom praktički u potpunosti odstranjen ZEN (Huff i Hagler, 1985). Nadalje, odstranjivanjem zrnja kukuruza koja su flotirala na površini zasićene vodene otopine natrijeva klorida postignuto je smanjenje sadržaja fumonizina od 86 %, pri čemu je škartirano oko 20 % tretirane šarže (Shetty i Bhat, 1999).

Pranje i namakanje

Mikotoksine topljive u vodi moguće je djelomično isprati s površine zrnja žitarica, a kako bi se osiguralo učinkovito pranje kontaminiranih namirnica vodom i vodenim otopinama, nužno je voditi računa o njihovoj topljivosti. Po pitanju mikotoksina koji su netopljivi u vodi, ali su dobro topljivi u lužnatim otopinama, kao što je primjerice ZEN, u svrhu poboljšanja učinka pranja često se koristi otopina natrijeva karbonata. Trokratno pranje zrnja ječma i kukuruza u destiliranoj vodi dovelo je do smanjenja sadržaja DON-a za 65–69 %, dok su se koncentracije ZEN-a smanjile za 2–61 % (Trenholm i sur., 1992). U slično koncipiranom istraživanju, jednokratnim ispiranjem



kukuruzna vodom postignuto je smanjenje koncentracija obaju toksina od 44 %. Ponovljenim potapanjem tretiranih žitarica u vodenu otopinu natrijeva karbonata koncentracije od 0,1 mol/L postignuto je dodatno smanjenje koncentracija DON-a i ZEN-a od 35 % (Rotter i sur., 1995). Kako se potapanje provodilo tijekom cijelog dana, ovu metodu se može ujedno smatrati i metodom kemijske obrade žitarica. Međutim, pranje žitarica i tehnike koje se temelje na uzgonu imaju nedostatak da nakon obrade zrnje treba isušiti prije faze skladištenja.

Namakanje predstavlja prvi korak u postupku mokroga mljevenja, a uključuje namakanje kukuruza u vodi koja sadrži 0,1 do 0,2 % SO_2 . Postupak traje 36–50 sati, a odvija se na temperaturi od 50 °C, čime se pospješuje odvajanje nametnika i razgradnja proteinskoga matriksa. Dodavanje SO_2 pospješuje i stvaranje mliječne kiseline, što se može smatrati i metodom kemijske obrade (Karlovsy i sur., 2016). Istraživanja pokazuju da je nakon namakanja, u tekućini u kojoj je kukuruz namakan, nađena otprilike polovina sadržaja aflatoksina u odnosu na početnu koncentraciju (Aly, 2002). Pujol i sur. (1999) izvijestili su da se namakanjem zrnja kukuruza u 0,2 %-oj otopini SO_2 kroz 6 sati pri temperaturi od 60 °C postiže učinkovito smanjenje sadržaja FB_1 . Određena je i podjednaka raspodjela OTA između vodotopivih frakcija i kukuruznoga griza (Wood, 1982), a namakanjem zrnja sirka u 0,2 %-oj natrijevoj lužini postignuto je smanjenje koncentracija AFB_1 , FB_1 , ZEN i DON ispod detektibilnih razina (Lefyedi i Taylor, 2006).

Ljuštenje i mljevenje

Ljuštenje podrazumijeva odstranjivanje vanjskog sloja zrnja različitim metodama, a primjenjuje se prije procesa mljevenja. Ograničavanje mogućnosti širenja plijesni i produkcije mikotoksina na površinskim slojevima zrnja preduvjet je za uspješno smanjenje sadržaja mikotoksina metodom ljuštenja (Vučković i sur., 2013). Međutim, različiti mikotoksini imaju različitu raspodjelu s obzirom na veličinu, odnosno prodiranje u dubinu samog zrnja. Primjerice, aflatoksini su uglavnom površinski raspoređeni te je ljuštenjem utvrđeno smanjenje kontaminacije kukuruza do čak 93 % (Siwela i sur., 2005). ZEN se koncentrira u dijelovima zrnja bogatim vlaknima, dok DON sve dijelove zrnja kontaminira podjednako (Schwake-Anduschus i sur., 2015).

U postupku mokroga mljevenja kukuruza, 40–50 % aflatoksina prijeđe u vodu u kojoj se kukuruz namače, 28–38 % zaostane u vlaknatoj frakciji, 11–17 % u glutenskoj frakciji, 6–11 % u klicama, a samo 1 % u škrobu (Yahl i sur., 1971; Bennett i Anderson, 1978). Fumonizini se dijelom otope u vodi u kojoj se kukuruz namače, no ukoliko je razina kontaminacije izrazito visoka, značajne količine fumonizina zaostaju. U klicama fumonizina ima značajno manje, dok ih u škrobu gotovo i nema (Bennett i sur., 1996). Pri mokrom mljevenju kukuruza dvije trećine T-2 toksina odstranjene su na način da su zaostale u vodi u kojoj se kukuruz namakao i u procesnoj vodi. U škrobu se nalazilo 4 % ukupne količine toksina, dok je njegov ostatak bio ravnomjerno raspodijeljen između klica, glutena i vlakana (Collins i Rosen, 1981). Nakon namakanja, OTA prisutan u namočenom kukuruzu se u gotovo jednakim količinama kumulirao u vodotopljivim frakcijama i kukuruznom grizu, dok je u klice prešlo svega 4 % njegove ukupne količine (Wood, 1982). Suho mljevenje kukuruznoga zrnja dovodi do nakupljanja mikotoksina u klicama i mekinjama (Bullerman i

Bianchini, 2007). Schollenberger i sur. (2008) izvijestili su da su nakon suhoga mljevenja kukuruza koncentracije 16 mikotoksina koje proizvode plijesni roda *Fusarium* u mekinjama i klicama bile veće negoli u integralnom zrnju. Istraživanje Pietri i sur. (2009) pokazalo je da se aflatoksini u klicama nakupljaju u većoj mjeri u odnosu na fumonizine.

Uporaba kelata

Uporaba kelata kao spojeva koji vežu mikotoksine predstavlja fizikalnu metodu dekontaminacije hrane koju se u načelu može koristiti i za ljude kao oblik medicinskog tretmana (Jans i sur., 2014). Podrazumijeva korištenje tvari, kao što su npr. aktivni ugljen i bentonit, koje vežu mikotoksine na svoju površinu. Aktivni ugljen koristio se za uklanjanje PAT iz prirodno kontaminirane jabukovače, dok se bentonitom uklanjalo AFM_1 iz kontaminiranoga mlijeka (Doyle i sur., 1982). U istraživanju De Nijisa i sur. (2012) raspravljano je o učinkovitosti ovih metoda u smanjenju koncentracije mikotoksina te o aspektima zdravstvene ispravnosti hrane povezanim s njihovom primjenom. Do sada je objavljeno svega nekoliko izvješća o redukciji mikotoksina u hrani uz uporabu kelata, upućujući na njihovu moguću učinkovitost (Wang i sur., 2005; Afriyie-Gyawu i sur., 2008).

Termička obrada

Iako većina mikotoksina ima termičku stabilnost, termička obrada, dakle izlaganje povišenoj temperaturi kroz određeno vrijeme, i nadalje nesumnjivo predstavlja jedan od najvažnijih procesa kojima se u industrijskoj preradi hrane može utjecati na sadržaj mikotoksina u gotovim prehrambenim proizvodima. Dok konvencionalna priprema hrane na temperaturama do 100 °C nema značajnijeg utjecaja na većinu mikotoksina, pripremom na višim temperaturama koje se koriste pri prženju, pečenju i tostiranju te ekstruziji, kontaminaciju mikotoksini moguće je umanjiti. Termička obrada hrane uključuje reakcije pretvorbe i nastanak novih manje toksičnih spojeva (Karlovsy i sur., 2016).

Ovisno o vlažnosti zrnja žitarica i temperaturi, ekstruzijom je razinu aflatoksina moguće smanjiti za 50–80 % (Bullerman i Bianchini, 2007), a tretman lužinom može povećati učinkovitost ovoga procesa. Slični rezultati dobiveni su i pri preradi brašna od kikirikija, pri kojoj se isključivim postupkom ekstruzije sadržaj aflatoksina smanjilo za 23–66 %, a u prisutnosti amonijeva hidroksida za do 87 % (Cheftel, 1989). Prženjem se razine aflatoksina prisutne u kikirikiju i pekan orasima mogu smanjiti za 50–70 %, a u kukuruzu za 40–80 % (Conway i sur., 1978). AFB_1 uništen je obradom na temperaturama iznad 160 °C, pri čemu je korištenje soje kao matriksa ubrzalo spomenuti proces (Raters i Matissek, 2008). Podaci ukazuju na visoku stabilnost OTA nakon primjene različitih metoda toplinske obrade mesnih proizvoda. Kuhanjem (100 °C) kontaminiranih mesnih proizvoda postignuta je redukcija OTA od 7,4 %, prženjem (170 °C) od 12,6 %, a tek pri visokim temperaturama (190–220 °C), primjenjenim tijekom pečenja u trajanju od 60 min, postignuta je značajnija redukcija ovog mikotoksina (75,8 %) (Pleadin i sur., 2014c). U zrnima kave, ovisno o temperaturi i veličini zrna, sadržaj OTA je prženjem smanjen za do 97 % (Oliveira i sur., 2013). Međutim, razgradnja OTA u pšenici putem zagrijavanja (Boudra i sur., 1995) i ekstruzije (Scudamore i sur., 2004) nije bila toliko učinkovita.

Cazzaniga i sur. (2001) izvijestili su o značajnom smanjenju razina DON-a, no u drugim su istraživanjima učinci termičke obrade u smislu snižavanja razine DON-a i nivale-nola (NIV-a) bili manji (Wu i sur., 2011) ili su potpuno izostali (Scudamore i sur., 2008). Ekstruzijskim kuhanjem kukuruznoga griza kontaminiranoga ZEN-om sadržaj toksina smanjen je za 65-83 % (Ryu i sur., 1999). Ekstruzija i prženje pokazale su se učinkovitima i u snižavanju razina FUM-a u kukuruznom grizu (smanjenje 34-95 %) (Bullerman i Bianchini, 2007). Značajnije smanjenje sadržaja mikotoksina tijekom ekstruzije postignuto je povećanjem temperature, smanjenjem brzine okretanja pužnice ekstrudera i dodavanjem glukoze. CIT se također može učinkovito razgraditi zagrijavanjem (Trivedi i sur., 1992), a tijekom pečenja kruha EA-i se dijelom razgrađuju i epimeriziraju (EFSA, 2012).

Ozračivanje

U industrijskim se uvjetima kao metodu uklanjanja mikotoksina iz namirnica može primijeniti ozračivanje, pri čemu energiju zračenja ustvari apsorbiraju i sastojci hrane i kontaminanti, dovodeći do različitih reakcija koje mijenjaju njihovu molekularnu strukturu. Neionizirajuća (solarna, UV, mikrovalna) i ionizirajuća (gama) zračenja mogu smanjiti sadržaj patogenih mikroorganizama u hrani ili ih u cijelosti odstraniti iz nje, a djelomično mogu smanjiti i sadržaj mikotoksina u hrani (Karlovsky i sur., 2016).

Istraživanja pokazuju da se foto-razgradnjom aflatoksina izravnim izlaganjem sunčevoj svjetlosti u trajanju od 3 sata razinu toksina u žitaricama može smanjiti za oko 40 %, a nakon izlaganja u trajanju od 30 sati za do 75 % (Herzallah i sur., 2008). Isti autori utvrdili su da je izlaganje sunčevoj svjetlosti učinkovitija metoda uklanjanja mikotoksina od 10-minutnoga zagrijavanja u mikrovalnoj pećnici (čime se postiže smanjenje razine toksina od 32 %) ili ozračivanja gama-zrakama u dozi od 25 kGy (čime se postiže smanjenje razine toksina od 43 %). Markov i sur. (2015) primjenom doze gama zračenja od 5 kGy i 10 kGy postigli su prosječnu redukciju AFB₁ u kontaminiranim uzorcima kukuruza u rasponu od 65,1 % do 100 %. Pri ozračivanju kikirikija, pistacija, riža i kukuruza dozom od 10 kGy došlo je do izrazitoga smanjenja razine aflatoksina za 59-88 % (Ghanem i sur., 2008). Međutim, novije istraživanje pokazuje da je pri ozračivanju dozom od 15 kGy postignuto smanjenje razine aflatoksina od samo 11-21 % (di Stefano i sur., 2014). Visconti i sur. (1996) pri ozračivanju kukuruza dozom od 15 kGy utvrdili su količinu fumonizina u iznosu od 20 % u odnosu na početnu količinu.

Tretman mikrovalnim zračenjem donekle je uspješno snizio razine DON-a u prirodno kontaminiranome kukuruzu, pri čemu je najbolji učinak postignut pri najvišim temperaturama (150-175 °C, smanjenje za 40 %) (Young, 1986). Ovo smanjenje sadržaja DON-a može se objasniti činjenicom da se pri termičkoj obradi stvara nekoliko nor-DON-ova čija je citotoksičnost daleko manja od utvrđene za DON (Bretz i sur., 2006). Izlaganje biljnoga ulja kontaminiranog ZEN-om sunčevoj svjetlosti i pohranjenog u standardnim staklenim bocama, uzrokovalo je izomerizaciju *trans*-ZEN-a u *cis*-ZEN, pri čemu je stopa konverzije iznosila do 90 % (Köppen i sur., 2012). Nakon izlaganja jabučnog soka UV-zračenju došlo je do smanjenja koncentracije PAT do 73 % (Assatarakul i sur., 2012),

ali je njegova primjena utjecala na okus jabučnoga soka i jabukovače.)

Hladna plazma

Hladna plazma ima jake antimikrobne učinke te se ovu metodu može koristiti u cilju sterilizacije hrane. Schlüter i sur. (2013) ukazali su na potencijale hladne plazme kao nove metode prerade hrane, no istodobno su upozorili i na činjenicu da njezina primjena iziskuje mjere opreza. Tretman hladnom plazmom smanjuje biološku aktivnost mikotoksina i inaktivira patogene viruse i bakterije stvaranjem visokih koncentracija molekula i radikala oksidativnog stresa (Saragapani i sur., 2018). S obzirom na visoki oksidacijski potencijal, tehnologija hladne plazme može se učinkovito koristiti u uklanjanju mikotoksina, a pritom vrsta hrane i mikotoksina nedvojbeno utječu na učinkovitost ove metode (Bourke i sur., 2018). Međutim, do sada nije provedeno niti jedno istraživanje u kojemu je ispitana mogućnost stvaranja toksičnih spojeva pri tretmanu plazmom. Stoga su autori zaključili da proizvode tretirane hladnom plazmom za sada treba sagledavati pojedinačno, a ne općenito. Rezultati istraživanja pokazuju da niskotlačna hladna plazma uništava do 50 % aflatoksina prisutnih na površini oraha bez utjecaja na organoleptička svojstva (Basaran i sur., 2008). Shi i sur. (2017) utvrdili su da pri višim razinama relativne vlažnosti s modificiranim plinovima s visokim udjelom kisika te pohranom nakon tretmana može poboljšati efikasnost hladne plazme u redukciji mikotoksina u sjemenkama. Nedavno je proučavan učinak hladne plazme uz atmosferski tlak i uporabu argona na stvaranje spora plijesni i mikotoksina koje proizvodi *Aspergillus niger* na datuljama (Ouf i sur., 2015). Nakon 9-minutnoga tretmana uništene su sve spore plijesni, a razine OTA i FB₂ smanjene su ispod detektibilnih razina. Primjenom hladne plazme pri atmosferskom tlaku na prirodno kontaminiranim uzorcima ječma zabilježena je redukcija koncentracije DON-a od 18 %, a T-2 toksina od 60 % (Križ i sur., 2015), a tretman nije rezultirao promjenama u nutritivnoj vrijednosti uzorka. Prednosti primjene hladne plazme uključuju niske temperature, kratko vrijeme procesiranja, visoku antimikrobnu efikasnost s minimalnim utjecajem na kvalitetu hrane i okoliš (Bourke i sur., 2018).

Kemijske metode

Tretman kiselinama

Većina poznatih mikotoksina otporna je na slabe kiseline, a tretman jakim kiselinama rezultira različitim učincima odnosno nastankom različitih novih spojeva. Primjerice, po pitanju aflatoksina, tretman jakim kiselinama uništio je biološku aktivnost AFB₁ i AFG₁ time što ih je konvertirao u monohidroksilirane derivate AFB_{2a} odnosno AFG_{2a}. Utvrđeno je da tretman klorovodičnom kiselinom (pH 2) smanjuje razine AFB₁ za 19 % unutar 24 sata (Doyle i sur., 1982). U prisutnosti anhidrida octene i klorovodične kiseline reakcija se nastavlja i ishodi derivatom koji sadrži acetoksi skupine. Najznačajniji učinak pri tretmanu žitarica, uz primjenu razrijeđene octene, limunske i mliječne kiseline u uvjetima koji su oponašali kuhanje, pokazala je mliječna kiselina, koja je AFB₁ konvertirala u AFB₂ (u tragovima) i AFB_{2a} (kao glavni produkt) (Aiko i sur., 2016). Osim detoksikacijskoga učinka u smislu uklanjanja aflatok-



sina, karboksilne kiseline male molekularne težine inhibiraju rast plijesni te se stoga koriste kao konzervansi (Karlovsky i sur., 2016).

Tretman lužinama

U alkalnim su uvjetima aflatoksini nestabilni, pri čemu prvi korak njihove razgradnje predstavlja otvaranje laktoskoga prstena. Kako je ovaj korak reverzibilan, važno je omogućiti da se reakcija provede do samoga kraja (Karlovsky i sur., 2016). Međutim, u većini je slučajeva postignuta tek djelomična detoksikacija. Razgradnja aflatoksina pomoću amonijaka izučavana je u nizu istraživanja, a pokazala se učinkovito kako u laboratorijskim pokusima, tako i u terenskim istraživanjima. Amonifikacija AFB₁ ishodila je dvama glavnim produktima razgradnje koji su zadržali difuranski dio molekule, a izgubili su laktoski prsten. Amonifikacija je razine aflatoksina u kukuruzu smanjila za više od 75 % (Park i sur., 2001) te u potpunosti razgradila OTA prisutan u kukuruzu, pšenici i ječmu (Chełkowski i sur., 1981). Amonifikacijom se prisustvo aflatoksina može gotovo eliminirati, a rezultira s dva glavna produkta razgradnje koji zadržavaju difuranski dio molekule, ali gube laktoski prsten, pri čemu nastaju aflatoksin D₁ i D₂. Učinkovitost procesa ovisi o temperaturi, tlaku, količini vlage, vremenskom trajanju i supstratu (Weng i sur., 1994). Rezultati uvelike govore u prilog učinkovitosti i neškodljivosti amonifikacije kao praktičnoga rješenja u uklanjanju aflatoksina iz pogače uljane repice namijenjene tovu. Unatoč činjenici da su istraživanja provedena u zadnja tri desetljeća dala dobre rezultate, amonifikacija prehrambenih proizvoda do sada nije odobrena niti u jednoj državi Europske unije.

Uporaba oksidansa

Poznato je da su aflatoksini poput AFB₁, AFG₁ i AFM₁, kod kojih u dihidrofuranskom prstenu postoji dvostruka veza, osjetljiviji na primjenu ozona (O₃) i drugih oksidansa, u odnosu na AFB₂, AFG₂ i AFM₂, u kojih takva dvostruka veza ne postoji (McKenzie i sur., 1997). Ozon razgrađuje aflatoksine prisutne u različitim namirnicama i vodenim otopinama, a istraživanja pokazuju da se oksidacija aflatoksina poglavito svodi na adiciju usmjerenu na dvostruku vezu u zadnjem furanskom prstenu, nakon koje slijede daljnje reakcije koje uključuju fenol koji nastaje nakon otvaranja laktoskoga prstena. Pretpostavlja se da je reakcija između ozona i dvostruke veze između C8-C9, koja se nalazi u furanskome prstenu aflatoksina, elektrofilne naravi te da slijedom te reakcije dolazi do stvaranja primarnih ozonida te susljedne pretvorbe u derivate kakvi su aldehidi, ketoni i organske kiseline. Rezultati istraživanja pokazuju da se nakon tretmana ozonom u trajanju od 10 minuta pri temperaturi od 75 °C razine AFB₁ u kikirikiju mogu smanjiti za 77 %, a razine AFG₁ za 80 %, dok je najveći stupanj razgradnje za AFB₂ i AFG₂ iznosio 51 % bez obzira na trajanje ozonizacije (Proctor i sur., 2004). U drugom istraživanju, smanjenje razina AFB₁ u paprici postignuto jednosatnim tretmanom ozonom (33 mg/L) iznosilo je 80 %, dok se jednako dugim tretmanom ozonom u koncentraciji od 66 mg/l postiglo smanjenje razina aflatoksina od 93 % (Inan i sur., 2007). Nakon 15-minutnoga tretmana visoko koncentrirani ozon može razgraditi i detoksicirati nekoliko mikotoksina *in vitro*, uključujući aflatoksine, ciklopiazoničku kiselinu, OTA, PAT i ZEN (McKenzie i sur., 1997). Vodikov peroksid (H₂O₂) korišten je za detoksikaciju aflatoksina

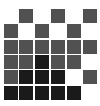
u različitim namirnicama (Altug i sur., 1990). Pokazalo se da učinkovitost H₂O₂ u razgradnji ZEN-a prisutnog u kontaminiranome kukuruzu ovisi o njegovoj koncentraciji, temperaturi i trajanju tretmana (Abd Alla, 1997). Primjena 0,05 %-og H₂O₂ dovela je do potpune detoksikacije CIT-a već nakon 30 minuta, dok se OTA na ovakav tretman pokazao otpornim (Fouler i sur., 1994).

Tretman reducensima

Pojedina istraživanja provedena su s natrijevim bisulfitom (NaHSO₃) te je utvrđeno da ovaj reducens uništava mikotoksine. Uklanjanjem AFB₁, AFG₁ i AFM₁ uz korištenje natrijeva bisulfit postignuti su obećavajući rezultati (Doyle i sur., 1982; Altug i sur., 1990). Ovom metodom može se postići učinkovita razgradnja kako niskih, tako i visokih, razina aflatoksina u kukuruzu (Karlovsky i sur., 2016). Dekontaminirani kukuruz pritom je dobio prihvatljiviju boju, bio je ukusniji, a rezidualna razina bisulfit bila je na razini dopuštene koncentracije aditiva u hrani. Tretmanom otopinama NaHSO₃ pri temperaturi od 80 °C razine DON-a u kontaminiranom kukuruzu (od 4,4 mg/kg) su nakon 18 sati smanjene za 85 % (Young i sur., 1987). Utvrđeno je da se primjenom natrijeva metabisulfit u koncentraciji od 10 g/kg u hranidbi svinja uspio suzbiti negativni učinak DON-a koji se očitovao kroz smanjenje apetita životinja (Dänicke i sur., 2005), a ovaj tretman dovodi do stvaranja manje toksičnoga DON sulfonata (Dänicke i sur., 2012). Kasnije je otkriveno da primjena različitih sumpornih reagensa u cilju smanjenja razina DON-a rezultira stvaranjem triju različitih DON sulfonata iste mase i molekularne formule (Schwartz i sur., 2013).

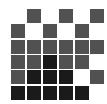
Zaključci

Kemijske metode nemaju praktičnu primjenu u uklanjanju mikotoksina budući uglavnom imaju negativan utjecaj na nutritivna, senzorska i funkcionalna svojstva proizvoda. Stoga je primjena ovih metoda dozvoljena isključivo u svrhu uklanjanja AFB₁ iz krmiva za razliku od fizikalnih metoda koje imaju puno značajniju primjenu. Trenutna istraživanja u području uklanjanja mikotoksina primarno se odnose na utvrđivanje optimalnih uvjeta pri provedbi fizikalnih metoda u cilju postizanja što značajnije redukcije odnosno uklanjanja ovih kontaminanata iz hrane i hrane za životinje. Pritom se veliki broj istraživanja odnosi na primjenu ekstruzije i gama zračenja, te uporabu hladne plazme kao fizikalne metode čija je primjena u posljednjem desetljeću sve značajnija budući da daje obećavajuće rezultate. Stoga će i naša daljnja istraživanja biti usmjerena na variranje brojnih čimbenika utjecaja i optimizaciju uvjeta u primjeni spomenutih fizikalnih metoda s ciljem uklanjanja mikotoksina iz hrane i hrane za životinje.



Literatura

- Abd Alla E.S. (1997) Zearalenone: incidence, toxigenic fungi and chemical decontamination in Egyptian cereals. *Nahrung*, 41 362–365.
- Afriyie-Gyawu E., Ankrah N.A., Huebner H.J., Ofosuhen M., Kumi J., Johnson N.M., Tang L., Xu L., Jolly P.E., Ellis W., Ofori-Adjei D., Williams J.H., Wang J.S., Phillips T.D. (2008) NovaSil clay intervention in Ghanaians at high risk for aflatoxicosis. I. Study design and clinical outcomes. *Food Additives and Contaminants*, 25 76–87.
- Aiko V., Edamana P., Mehta A. (2016) Decomposition and detoxification of aflatoxin B₁ by lactic acid. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96 1959–1966.
- Altug T., Youssef A.E., Marth E.H. (1990) Degradation of aflatoxin B₁ in dried figs by sodiumbisulfite with or without heat, ultraviolet energy or hydrogen peroxide. *Journal of Food Protection*, 53 581–628.
- Aly S.E. (2002) Distribution of aflatoxins in product and by-products during glucose production from contaminated corn. *Nahrung*, 46 341–344.
- Assatarakul K., Churey J.J., Manns D.C., Worobo R.W. (2012) Patulin reduction in apple juice from concentrate by UV radiation and comparison of kinetic degradation models between apple juice and apple cider. *Journal of Food Protection*, 75 717–724.
- Basaran P., Basaran-Akgul N., Oksuz L. (2008) Elimination of *Aspergillus parasiticus* from nut surface with low pressure cold plasma (LPCP) treatment. *Food Microbiology*, 25 626–632.
- Bennett G.A., Anderson R.A. (1978) Distribution of aflatoxin and/or zearalenone in wet-milled corn products: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26 1055–1060.
- Bennett G.A., Richard J.L., Eckhoff S.R. (1996) Distribution of fumonisins in food and feed products prepared from contaminated corn. U: Jackson L.S., DeVries J.W., Bullerman L.B. (ed): *Fumonisins in food*. str. 317–322. Plenum Press, New York, USA.
- Boudra H., Bars P.L., Bars J.L. (1995) Thermostability of Ochratoxin A in wheat under two moisture conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 61 1156–1158.
- Bourke P., Ziuzina D., Boehm D., Cullen P.J., Keener K. (2018) The Potential of Cold Plasma for Safe and Sustainable Food Production, *Trends in Biotechnology*, available online 9 January 2018, <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.11.001>
- Bretz M., Beyer M., Cramer B., Knecht A., Humpf H.-U. (2006) Thermal degradation of the *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 6445–6451.
- Bullerman L.B., Bianchini A. (2007) Stability of mycotoxins during food processing. *International Journal of Food Microbiology*, 119 140–146.
- Cazzaniga D., Basílico J.C., González R.J., Torres R.L., de Greef D.M. (2001) Mycotoxins inactivation by extrusion cooking of corn flour. *Letters in Applied Microbiology*, 33 144–147.
- Cheftel J.C. (1989) Extrusion cooking and food safety. U: Mercier C., Linko P., Harper J.M. (ed): *Extrusion cooking*, str. 435–461. American Association of Cereal Chemists, Minnesota.
- Chełkowski J., Goliński P., Godlewska B., Radomska W., Szebiotko K., Wiewiórowska M. (1981) Mycotoxins in cereal grain. Part IV. Inactivation of ochratoxin a and other mycotoxins during ammoniation. *Nahrung*, 25 631–637.
- Collins G.J., Rosen J.D. (1981) Distribution of T-2 toxin in wet-milled corn products. *Journal of Food Science*, 46 877–879.
- Conway H.F., Anderson R.A., Bagley E.B. (1978) Detoxification of aflatoxin-contaminated corn by roasting. *Cereal Chemistry*, 55 115–117.
- Dänicke S., Kersten S., Valenta H., Breves G. (2012) Inactivation of deoxynivalenol-contaminated cereal grains with sodium metabisulfite: a review of procedures and toxicological aspects. *Mycotoxin Research*, 28 199–218.
- Dänicke S., Valenta H., Gareis M., Lucht H.W., von Reichenbach H. (2005) On the effects of a hydrothermal treatment of deoxynivalenol (DON)-contaminated wheat in the presence of sodium metabisulfite (Na₂S₂O₅) on DON reduction and on piglet performance. *Animal Feed Science and Technology*, 118 93–108.
- de Nijs M., van Egmond H.P., Nauta M., Rombouts F.M., Notermans S. (2012) Mycotoxin binders in feed: food safety aspects. In report 2011.019 of RIKILT, Institute of Food Safety. Wageningen University (University & Research Centre), Wageningen.
- di Stefano V., Pironzo R., Avellone G. (2014) Effect of gamma irradiation on aflatoxins and ochratoxin A reduction in almond samples. *Journal of Food Research*, 3 113–118.
- 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.
- Doyle M.P., Applebaum R.S., Brackett R.E., Marth E.H. (1982) Physical, chemical and biological degradation of mycotoxins in foods and agricultural commodities. *Journal of Food Protection*, 45 964–971.
- EC, European Commission (2015) Regulation 2015/786 defining acceptability criteria for detoxification processes applied to products intended for animal feed. *Official Journal of European Union*, 125 10–14.
- 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.
- Fouler S.G., Trivedi A.B., Kitabatake N. (1994) Detoxification of citrinin and ochratoxin A by hydrogen peroxide. *Journal of AOAC International*, 77 631–637.
- Ghanem I., Orfi M., Shamma M. (2008) Effect of gamma radiation on the inactivation of aflatoxin B₁ in food and feed crops. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39, 787–791.
- 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.
- Grenier B., Bracarense A.P., Leslie J.F., Oswald I.P. (2014) Physical and chemical methods for mycotoxin decontamination in maize. U: Leslie J.F., Logrieco A.F. (ed): *Mycotoxin reduction in grain chains*, str. 116–129. Wiley Blackwell, New Delhi.



- Herzallah S., Al Shawabkeh K., Al Fatafah A. (2008) Aflatoxin decontamination of artificially contaminated feeds by sunlight, γ -radiation, and microwave heating. *Journal of Applied Poultry Research*, 17 515–521.
- Huff W.E. (1980) A physical method for the segregation of aflatoxincontaminated corn. *Cereal Chemistry*, 57 236–238.
- Huff W.E., Hagler W.M. (1985) Density segregation of corn and wheat naturally contaminated with aflatoxin, deoxynivalenol and zearalenone. *Journal of Food Protection*, 48 416–420.
- Inan F., Pala M., Doymaz I. (2007) Use of ozone in detoxification of aflatoxin B₁ in red pepper. *Journal of Stored Products Research*, 43 425–429.
- Jans D., Pedrosa K., Schatzmayr D., Bertin G., Grenier B. (2014) Mycotoxin reduction in animal diets. U: Leslie J.F., Logrieco A.F. (ed): *Mycotoxin reduction in grain chains*, str. 101–110. Wiley, Oxford.
- Johansson A.S., Whitaker T.B., Hagler W.M. Jr., Bowman D.T., Slate A.B., Payne G. (2006) Predicting aflatoxin and fumonisin in shelled cornnlots using poor-quality grade components. *Journal of AOAC International*, 89 433–440.
- Kabak B., Dobson A.D.W., Var I. (2006) Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46 593–619.
- 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.
- Köppen R., Riedel J., Proske M., Drzymala S., Rasenko T., Durmaz V., Weber M., Koch M. (2012) Photochemical trans-/cis-isomerization and quantitation of zearalenone in edible oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 11733–11740.
- Križ P., Petr B., Zbynek H., Jaromir K., pavel O., Petr Š., Miroslav D. (2015) Influence of Plasma Treatment in Open Air on Mycotoxin Content and Grain Nutriment. *Plasma Medicine*, 5 145–158.
- Lefyedi M.L., Taylor J.R.N. (2006) Effect of dilute alkaline steeping on the microbial contamination, toxicity and diastatic power of sorghum malt. *Journal of the Institute of Brewing*, 112 108–116.
- Markov K., Mihaljević B., Domijan A.-M., Pleadin J., Delaš F., Frece J. (2015) Inactivation of aflatoxigenic fungi and the reduction of aflatoxin B₁ *in vitro* and *in situ* using gamma irradiation. *Food Control*, 54 79–85.
- McKenzie K.S., Sarr A.B., Mayura K., Bailey R.H., Miller D.R., Rogers T.D., Norred W.P., Voss K.A., Plattner R.D., Kubena L.F., Phillips T.D. (1997) Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. *Food and Chemical Toxicology*, 35 807–820.
- Mutiga S.K., Were V., Hoffmann V., Harvey H.W., Milgroom M.G., Nelson R.J. (2014) Extent and drivers of mycotoxin contamination: inferences from a survey of Kenyan maize mills. *Phytopathology*, 104 1221–1231.
- Oliveira G., da Silva D.M., Pereira R.G.F.A., Paiva L.C., Prado G., Batista L.R. (2013) Effect of different roasting levels and particle sizes on ochratoxin A concentration in coffee beans. *Food Control*, 34 651–656.
- Ouf S.A., Basher A.H., Mohamed A.A. (2015) Inhibitory effect of double atmospheric pressure argon cold plasma on spores and mycotoxin production of *Aspergillus niger* contaminating date palm fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95 3204–3210.
- Park D.L., Price W.D. (2001) Reduction of aflatoxin hazards using ammoniation. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 171 139–175.
- Pietri A., Zanetti M., Bertuzzi T. (2009) Distribution of aflatoxins and fumonisins in dry-milled maize fractions. *Food Additives and Contaminants Part A*, 26 372–380.
- Pleadin J., Frece J., Markov K. (2017) Utjecaj postupaka prerade na transformaciju i smanjenje koncentracije mikotoksina u određenim skupinama hrane. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 12 4–13.
- Pleadin J., Markov K., Frece J. (2014a) Aflatoxini - Onečišćenje, učinci i metode redukcije. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 9 75–82.
- Pleadin J., Markov K., Frece J., Vulić A., Perši N. (2014b) Bio-Prevalence, Determination and Reduction of Aflatoxin B₁ in Cereals. U: Adina G. (ed): *Aflatoxins: Food Sources, Occurrence and Toxicological Effects*, str. 1–34. Faulkner, Nova Science Publishers, USA.
- 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.
- Pleadin J., Vahčić N., Perši N., Ševelj D., Markov K., Frece J. (2013) *Fusarium* mycotoxin's occurrence in cereals harvested from Croatian fields. *Food Control*, 32 49–54.
- Pleadin J., Vulić A., Perši N., Škrivanko M., Capek B., Cvetnić Ž. (2015) Annual and regional variations of aflatoxin B₁ levels seen in grains and feed coming from Croatian dairy farms over a 5-year period. *Food Control*, 47 221–225.
- Proctor A.D., Ahmedna M., Kumar J.V., Goktepe I. (2004) Degradation of aflatoxins in peanut kernels/flour by gaseous ozonation and mild heat treatment. *Food Additives and Contaminants*, 21 786–793.
- Pujol R., Torres M., Sanchis V., Canela R. (1999) Fate of fumonisin B₁ in corn kernel steeping water containing SO₂. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 276–278.
- Raters M., Matissek R. (2008) Thermal stability of aflatoxin B₁ and ochratoxin A. *Mycotoxin Research*, 24 130–134.
- Rotter R.G., Rotter B.A., Thompson B.K., Prelusky D.B., Trenholm H.L. (1995) Effectiveness of density segregation and sodium carbonate treatment on the detoxification of *Fusarium*-contaminated corn fed to growing pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 68 331–336.
- Rustom I.Y.S. (1997) Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chemistry*, 59 57–67.
- Ryu D., Hanna M.A., Bullerman L.B. (1999) Stability of zearalenone during extrusion of corn grits. *Journal of Food Protection*, 62 1482–1484.
- Sarangapani C., Patange A., Bourke P., Keener K., Cullen P.J. (2018) Recent Advances in the Application of Cold Plasma Technology in Foods. *Annual Review of Food Science and Technology*, 9 26.1–26.21.
- Schlüter O., Ehlbeck J., Hertel C., Habermeyer M., Roth A., Engel K.H., Holzhauser T., Knorr D., Eisenbrand G. (2013)



- Opinion on the use of plasma processes for treatment of foods. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57 920–927.
- Schollenberger M., Mueller H.-M., Ruefle M., Drochner W. (2008) Redistribution of 16 *Fusarium* toxins during commercial dry milling of maize. *Cereal Chemistry*, 85 557–560.
- Schwake-Anduschus C., Proske M., Sciorba E., Muenzing K., Koch M., Maul R. (2015) Distribution of deoxynivalenol, zearalenone, and their respective modified analogues in milling fractions of naturally contaminated wheat grains. *World Mycotoxin Journal*, 8 433–443.
- 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.
- 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*, 21 488–497.
- Scudamore K.A., Guy R.C.E., Kelleher B., MacDonald S.J. (2008) Fate of the fusarium mycotoxins, deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone, during extrusion of wholemeal wheat grain. *Food Additives and Contaminants Part A*, 25 331–337.
- Shetty P.H., Bhat R.V. (1999) A physical method for segregation of fumonisin-contaminated maize. *Food Chemistry*, 66 371–374.
- Shi H., Ilejki K., Stroshine R.L., Keener K., Jensen J.L. (2017) Reduction of aflatoxin in corn by high voltage atmospheric cold plasma. *Food and Bioprocess Technology*, 10 1042–1052.
- Siwela A.H., Siwela M., Matindi G., Dube S., Nziramsanga N. (2005) Decontamination of aflatoxin-contaminated maize by dehulling. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85 2535–2538.
- Sydenham E.W., van der Westhuizen L., Stockenstrom S., Shephard G.S., Thiel P.G. (1994) Fumonisin-contaminated maize: physical treatment for the partial decontamination of bulk shipments. *Food Additives and Contaminants*, 11 25–32.
- Trenholm H.L., Charmley L.L., Prelusky D.B., Warner R.M. (1991) Two physical methods for the decontamination of four cereals contaminated with deoxynivalenol and zearalenone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39 356–360.
- Trenholm H.L., Charmley L.L., Prelusky D.B., Warner R.M. (1992) Washing procedures using water or sodium carbonate solutions for the decontamination of three cereals contaminated with deoxynivalenol and zearalenone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40 2147–2151.
- Trivedi A.B., Doi E., Kitabatake N. (1992) Cytotoxicity of citrinin heated at temperatures above 100 °C. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 56 423–426.
- Visconti A., Solfrizzo M., Doko M.B., Boenke A., Pascale M. (1996) Stability of fumonisins at different storage periods and temperatures in gamma irradiated maize. *Food Additives and Contaminants*, 13 929–938.
- Vučković J., Bodroža-Solarov M., Đura Vujić Đ., Bočarov-Stančić A., Bagi F. (2013) Protective effect of hulls on the occurrence of *Alternaria* mycotoxins in spelt wheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93 1996–2001.
- Wang J.S., Luo H., Billam M., Wang Z., Guan H., Tang L., Goldston T., Afriyie-Gyawu E., Lovett C., Griswold J., Brattin B., Taylor R.J., Huebner H.J., Phillips T.D. (2005) Short-term safety evaluation of processed calcium montmorillonite clay (NovaSil) in humans. *Food Additives and Contaminants*, 22 270–279.
- Weng C.Y., Martinez A.J., Park D.L. (1994) Efficacy and permanency of ammonia treatment in reducing aflatoxin levels in corn. *Food Additives and Contaminants*, 11 649–658.
- WHO, World Health Organization (1991) Food Irradiation. A technique for preserving and improving the safety of food. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Wood G.M. (1982) Effects of processing on mycotoxins in maize. *Chemistry and Industry*, 972, 1982.
- Wu Q., Lohrey L., Cramer B., Yuan Z., Humpf H.U. (2011) Impact of physicochemical parameters on the decomposition of deoxynivalenol during extrusion cooking of wheat grits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 12480–12485.
- Yahl K.R., Watson S.A., Smith R.J., Barabolok R. (1971) Laboratory wetmilling of corn containing high levels of aflatoxin and a survey of commercial wet-milling products. *Cereal Chemistry*, 48 385–391.
- Young J.C. (1986) Reduction in levels of deoxynivalenol in contaminated corn by chemical and physical treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34 465–467.
- Young J.C., Trenholm H.L., Friend D.W., Prelusky D.B. (1987) Detoxification of deoxynivalenol with sodium bisulfite and evaluation of the effects when pure mycotoxin or contaminated corn was treated and given to pigs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35 259–261.