

Mikotoksini u lancu ishrane – analiza rizika i značaj za javno zdravstvo

Milićević Dragan¹, Nedeljković-Trailović Jelena², Mašić Zoran³

S a d r ž a j: Oboljenja ljudi prouzrokovana kontaminiranjem hranom predstavljaju jedan od najvećih problema sa kojim se suočava savremeno čovečanstvo. Glavni uzročnici kontaminacije su mikroorganizmi, naročito plesni, koje sintetišu jedinjenja male molekulske mase sa izrazitim toksičnim efektom na žive organizme. Mikotoksini su sekundarni metaboliti pretežno *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* i *Claviceps* vrsta plesni, koje mogu kontaminirati hranu na polju (preharvest) i/ili tokom skladištenja (postharvest). Iako je do sada poznato preko 400 mikotoksina zbog svoje zastupljenosti i toksičnosti, aflatoksini (AFT), ohratoksin A (OTA), trihoteceni (TCT), zearalenon (ZEA), fumonizini (FB), tremorgenji mikotoksini i ergotalkaloidi, predstavljaju najveći medicinski, nutritivni, ekološki i ekonomski problem. Specifičnost mikotoksina u odnosu na druge toksine ogleda se u tome da pojedini rodovi plesni mogu da sintetišu nekoliko mikotoksina, kao i to da pojedini mikotoksini mogu biti proizvod sekundarnog metabolizma nekoliko rodova i vrsta plesni. S toga je kozastupljenost mikotoksina u kontaminiranoj hrani veoma česta pojava. Faktori koji utiču na kolonizaciju plesni i sintezu mikotoksina odnose se na faktore spoljašnje sredine (ekstrinik) u koje spadaju skladišni uslovi i koji se mogu kontrolisati, dok ostale faktore spoljašnje sredine kao što su klimatske promene ili unutrašnje (intrinik) faktore, u koje spadaju specifičnost i varijacije pojedinih vrsta plesni i nestabilnost toksigenih svojstava plesni, je veoma teško kontrolisati. Mikotoksini u organizam ljudi i životinja najčešće dopireju putem kontaminirane hrane, ali su inhalacioni i dermalni put, takođe mogući. Oboljenja ljudi i životinja izazvana mikotoksinima se nazivaju mikotoksikoze. Mikotoksini izazivaju različite akutne i hronične biološke efekte u organizmu ljudi i životinja. Smatra se da su monogastrične životinje daleko osetljivije na dejstvo mikotoksina u odnosu na preživare. Ekonomski značaj mikotoksina odražava se kroz povećane troškove lečenja ljudi i životinja, smanjenje produktivnih rezultata životinja uključujući i uginuća, direktne i indirektno štete koje nastaju usled uklanjanja kontaminirane hrane, investiranje u istraživanja i primenu preventivnih mera u sprečavanju negativnog efekta prisustva mikotoksina u hrani na zdravlje ljudi i životinja. Ovaj rad ima za cilj da sagleda ne samo zdravlje ljudi, već i da bude informativan za stručnjake u ovoj oblasti kako bi se otklonile određene nejasnoće vezane za prisustvo ove vrste hemijskog hazarda biološkog porekla u lancu ishrane. Stoga je u ovom radu prikazana zastupljenost i toksičnost najznačajnijih mikotoksina i način donošenja zakonske regulative. Takođe, opisane su analitičke metode za dokazivanje mikotoksina i mere koje se preduzimaju u prevenciji i kontroli mikotoksina.

Ključne reči: analiza rizika, bezbednost hrane, javno zdravstvo, mikotoksini.

Uvod

Bazirano na podacima Globalnog monitoringa zaštite životne sredine – monitoringu kontaminacije hrane i programu procene rizika od mikotoksina (Global Environment Monitoring System – Food Contamination Monitoring and Assessment Programme – GEMS/Food, Joint Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization – FAO/WHO) kao i podacima drugih nacionalnih agencija, mikotoksini po učestalosti pojavljivanja, nutritivnim, zdravstvenim (reproduktivnim) poremećajima i ekonomskim štetama predstavljaju veoma ozbiljan problem u sistemu snabdevanja stanovništva hranom, naročito

u zemljama u razvoju (*Shephard*, 2008). Negativan uticaj mikotoksina ogleda se kako na bezbednost hrane, zdravlje ljudi i produktivnost životinja (*Scudamore*, 2005), tako na nacionalnu ekonomiju i na međunarodnu trgovinsku razmenu. Prema godišnjem izveštaju Evropske komisije za 2011. godinu, mikotoksini su bili najzastupljeniji hazard za obaveštenje o odbijanju na granici i aktiviranje Sistema za brzo alarmiranje potrošača koji se odnosi na hranu za ljude i životinje (*RASFF*, 2011).

Danas je poznato na hiljade sekundarnih metabolita plesni, od kojih neki poseduju izrazitu aktivnost protiv živih organizama. Sekundarni metaboliti nemaju biohemijski značaj za rast plesni i uglavnom služe da plesnima daju kompetitivnu

¹Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11000 Beograd, Republika Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine, Bulevar oslobođenja 18, 11000 Beograd, Republika Srbija;

³Naučni institut za veterinarstvo Novi Sad, Rumenički put 20, 21000 Novi Sad, Republika Srbija.

prednost u odnosu na druge organizme. U zavisnosti od toga na koje organizme deluju, sekundarni metaboliti su podeljeni na antibiotike (bakterije), fitotoksine (biljke) i mikotoksine (vertebrate i ostale životinjske vrste). Smatra se da se broj sekundarnih metabolita kreće i do 3000 od kojih je oko 400 hemijski identifikovano i smatra se mikotoksinima (Riley, 1998). Mikotoksini su po hemijskoj strukturi raznorodna, relativno stabilna organska jedinjenja, male molekulske težine (200–700 Da), koja po strukturi, variraju od prostih C₄ jedinjenja (moniliformin), do kompleksnih jedinjenja kao što su fomopsin i tremorgen mikotoksini (Brase i dr., 2009). Većina mikotoksina je liposolubilna te se akumuliraju u masnim depoima biljaka i životinja, dok su u vodi nerastvorljivi (izuzev fumonizina). Mada su skoro svi mikotoksini citotoksični, jer oštećuju različite ćelijske strukture i interferiraju sa vitalnim ćelijskim procesima, kao što su sinteza RNK, DNK, proteina, blokada respiratornog lanca, brojnim istraživanjima utvrđeno je da samo 20–30 prema svojoj toksičnosti i zastupljenosti imaju medicinski, nutritivni, ekološki i ekonomski značaj (Wild i Gong, 2010). To su toksini uglavnom produkti plesni iz rodova *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* i *Claviceps* (Herebian i dr., 2009). Prirodno se javljaju kao kontaminanti različitih vrsta namirnica biljnog porekla kao što su: žitarice, susam, kikiriki, pistači, badem, lešnik, suvo voće i povrće, kafa, uljarice i dr. (Bryden, 2012), koje čine osnovu u ishrani stanovništva, naročito zemalja u razvoju. Mogu se naći u vinu, pivu i voćnim sokovima, kao rezultat upotrebe kontaminirane sirovine za njihovo spravljanje. Posebnu opasnost predstavlja mogućnost da se u organizmu životinja koje su uzimale kontaminiranu hranu mogu naći rezidue (mikotoksini i/ili njihovi metaboliti) u različitim koncentracijama (Miličević i dr., 2009). Na ovaj, indirektan način preko primarnih proizvoda animalnog porekla mikotoksini ulaze u lanac ishrane (Soriano, 2007).

Na ispoljavanje toksičnih efekata mikotoksina na organizam ljudi i životinja utiče prvenstveno životinjska vrsta, mehanizam dejstva mikotoksina (toksikodinamika), metaboličkih specifičnosti organizma (toksikokinetika) i odbrambeni mehanizmi organizma. Ove specifičnosti najbolje su opisane u razlikama u osetljivosti preživara i nepreživara na mikotoksine. Buražna mikroflora preživara ima sposobnost detoksikacije mikotoksina, te su preživari daleko rezistentniji na prisustvo mikotoksina u hrani u odnosu na nepreživare. Određena istraživanja ukazuju da rasna pripadnost i genetske razlike pa čak i unutar iste rase mogu imati uticaj na ispoljavanje bioloških efekata mikotoksina na organizam ljudi (Kuiper-Goodman, 2004).

Mikotoksini hemijski hazard

Globalni značaj mikotoksina, a time i njihova identifikacija kao hazarda, bazira se na sporadičnim epidemijama koje se još uvek javljaju u pojedinim delovima sveta, kao i njihovo dovodenje u vezu sa pojavom određenih oboljenja kod ljudi i životinja u pojedinim delovima sveta (Richard, 2007). Definisanje i klasifikacija mikotoksina je veoma složen postupak. Zbog razlika u hemijskoj strukturi i biosintetskom poreklu, kao i različitim biološkim efektima, klasifikacione šeme uglavnom odražavaju naučnu oblast kojima istraživanja pripadaju. Uglavnom najprihvatljivije su one podele koje zastupaju kliničari u zavisnosti od toga na koje organe mikotoksini deluju (hepatotoksini, nefrotoksini, neurotoksini, imunotoksini), molekularni biolozi prema biološkim efektima koje mikotoksini izazivaju (teratogeni, mutageni, kancerogeni i alergeni agensi) i na kraju mikolozi prema rodovima plesni koje ih sintetišu (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* i *Claviceps* toksini). Mikotoksikoze ljudi i životinja karakterišu se kao oboljenja uzrokovana kontaminiranom hranom (alimentarne intoksikacije), toksine sintetišu isključivo plesni (biotoksini), oboljenja nisu infektivna i kontagiozna, a klinički simptomi bolesti najčešće nestaju nakon zamenjenjem kontaminirane hrane. Smatra se da su ljudi i životinje konstantno izloženi istovremenom dejstvu nekoliko mikotoksina i to najčešće u niskim koncentracijama. Podaci o potencijalnim interakcijama i štetnim efektima nastalim istovremenim dejstvom nekoliko mikotoksina na organizam ljudi i životinja su još uvek nedovoljni.

Internacionalna agencija za izučavanje raka (International Agency for Research on Cancer (IARC, 1993), evaluirala je kancerogena svojstva AFT, OTA, TCT, ZEA i FB. Aflatoksini su svrstani u grupu kancerogenih jedinjenja (Grupa 1), OTA i FB su svrstani u Grupu 2B (mogući kancerogeni), dok su TCT i ZEA svrstani u Grupu 3 kao nekancerogena jedinjenja, ali sa štetnim efektom po zdravlje ljudi. Pored navedenih mikotoksina, patulin, sterigmatocistin, ergotalkaloidi i *Alternaria* toksini predmet su evaluacije od strane međunarodnih organizacija.

Aflatoksini (AFT) su heterociklični metaboliti, produkti sekundarnog metabolizma plesni *Aspergillus flavus* Link, *A. parasiticus* Speare, *A. nominus*, *A. pseudotamarii* i *A. bombzicis* (Peterson i dr., 2001). Hemijski, aflatoksini (AFT) su difurokumarolaktoni. U svojoj strukturi aflatoksini sadrže bifuranski prsten, koji se sastoji od kumarinskog jezgra i pentanskog prstena (AFTB₁, B₂, M₁) ili šestočlanog laktonskog prstena (AFTG₁, AFTG₂). Do sada je identifikovano 18 aflatoksina, međutim

po svojoj toksičnosti i zastupljenosti, najznačajniji je AFTB₁ (IARC, 1993), dok su ostali aflatoksinini (AFTG₁, AFTB₂, AFTG₂), manje toksični ili se javljaju u prirodi samo kao produkti metabolizma (AFTM₁, AFTM₂, AFTP₁, AFTQ₁, aflatoksikol). Kukuruz, kikiriki, začini i ostale žitarice poreklom iz tropskih i subtropskih regiona predstavljaju dominantan izvor aflatoksina u ishrani ljudi i životinja (EFSA, 2004a). Izloženost ljudi aflatoksинима može biti i preko namirnica animalnog porekla konzumiranjem namirnica dobijenih od životinja hranjenih kontaminiranom hranom (meso, mleko, jaja) (Herzallah, 2009). Aflatoxin je utvrđen i u proizvodima od mesa, kao rezultat upotrebe začina kontaminiranih AFT (Azis i dr., 1991). Posebnu opasnost, naročito za decu, predstavlja mogućnost da se AFTB₁ kod životinja u laktaciji i žena izlučuje mlekom u obliku svog hidrosilisanog metabolita AFTM₁ (EFSA, 2004a), koji je svrstan u grupu 1 kancerogena (IARC, 2002). Zbog dokazanog kancerogenog i citotoksičnog svojstva aflatoksina i uloge AFTB₁ u razvoju primarnog kancera jetre (PLC) kod ljudi, aflatoksinini od svog otkrića pa do danas predstavljaju predmet obimnih istraživanja. Ciljno tkivo aflatoksina je jetra, međutim postoje podaci koji ukazuju da AFT može uzrokovati tumore i u drugim organima, kao što su kolon i bubrezi (Williams i dr., 2004). Veza između pojave PLC i izloženosti ljudi aflatoksинима jasno je dokazana kod individua obolelih od hepatitisa B i/ili C virusa u delovima Afrike i Azije (Wu i Santella, 2012). Obimna istraživanja sprovedena u Sudanu, Gani, Keniji i Nigeriji, ukazuju da aflatoksinini i njihovi metaboliti prolaze kroz placentu (Maxwell i dr., 1998). Rezidue AFT utvrđene su u tkivima dece obolele od Kwashiorkor i Reyesovog sindroma. Mehanizam dejstva AFTB₁ zasniva se na kovalentnom vezivanju AFTB₁ metabolita (AFB1-8,9-epoksida) za DNK u ciljnim ćelijama, stvarajući AFB1-N7-guanin addukte (Bailey, 1994), što za posledicu ima oštećenje DNK, mutacije i tumorozne promene. U pogledu citotoksičnog efekta, AFTB₁ dovodi do lipidne peroksidacije i oksidativnog stresa u hepatocitima i inhibiše cikličnu aktivnost nukleotid fosfodiesteraze u mozgu, jetri, srcu i bubrežima (Bonsi i dr., 1999). Od strane WHO klasifikovani su kao jedinjenja za koja ne postoji tolerantni dnevni unos (TDI). Stoga su maksimalno dozvoljene količine (MDK) u hrani postavljene po principu ALARA (*as low as reasonably achievable*).

Ohratoksini (OTA) predstavljaju grupu od sedam strukturnih jedinjenja derivata izokumarina vezanih amidnom vezom preko 7 karboksilne grupe za aminokiselinu L β-fenilalanin. Klasifikovani su u skladu sa biosintetskim poreklom kao pentaketidi unutar grupe poliketida. Iako grupu ohratoksina čine

sedam jedinjenja, po svojoj toksičnosti i zastupljenosti najznačajniji je ohratoksin A (OTA). Hemijsku strukturu OTA definisali su Van der Merwe i dr. (1965), koji su ekstrahovali i prečistili toksin iz kulture plesni *Aspergillus ochraceus* po kojoj je toksin i dobio ime. Ohratoksin A se prirodno javlja kao kontaminant različitih vrsta biljnih proizvoda kao što su: žitarice, brašno, kafa, čajevi, začini, mahunarke i sušeno voće (IARC, 1993), kao rezultat loše higijenske, poljoprivredne i skladišne prakse (Moss, 1996). Takođe, utvrđen je u vinu, pivu i voćnim sokovima kao rezultat upotrebe kontaminiranih sirovina za njihovu proizvodnju (Rubert i dr., 2011). Analizom ovih namirnica utvrđeno je da ohratoksin A sintetišu plesni *Penicillium verrucosum*, *Penicillium viridicatum*, *Aspergillus niger* i *Aspergillus carbonarius* (EFSA, 2004b; Duarte, i dr., 2011). Veoma visoka učestalost kontaminacije hrane OTA zabeležena je u zemljama Balkanskog poluostrva i to u područjima gde je zabeležena endemska nefropatija ljudi. Rezidue OTA utvrđene su u bubrežima, jetri, mesu i mleku životinja hranjenih kontaminiranom hranom (Milićević i dr., 2011; Nedeljkovic-Trailovic i dr., 2013). Procenjuje se da svinjsko meso i meso živine učestvuje sa oko 3–10% od ukupne izloženosti ljudi OTA (EFSA, 2004b).

Saznanja do kojih se došlo poslednjih godina, ukazuju na korelaciju između pojave hroničnog intersticijalnog nefritisa i visoke izloženosti stanovništva OTA putem hrane (Pfohl-Leschkowicz i Manderville, 2007). Istraživanja sprovedena u 20 zemalja ukazuju na mogućnost uloge OTA u razvoju kancera testisa kod ljudi (Schwartz, 2002). Stepem pojavljivanja kancera bio je u signifikantnoj korelaciji sa konzumiranjem kafe i svinjskog mesa po glavi stanovnika. Na osnovu istraživanja sprovedenih u Danskoj, Mađarskoj, Poljskoj i skandinavskim zemljama, OTA se smatra važnim etiološkim faktorom mikotoksične nefropatije svinja (Duarte i dr., 2011). Mehanizam toksičnosti OTA zasniva se na kompetitivnoj inhibiciji mitohondrijalnih enzima (ATP-aza, sukcinat dehidrogenaza i citohrom C oksidaza), stvaranju hidroksil radikala i lipidne peroksidacije (Wei i dr., 1985). Na bazi velikog broja podataka o kancerogenom dejstvu OTA na različitim životinjskim vrstama i za sada nedovoljnom broju podataka na ljudima, IARC klasifikovala je OTA kao mogući kancerogeni agens za ljude i svrstala ga u grupu 2B (IARC, 1993). Ohratoksin A osim nefrotoksičnog, poseduje teratogeno, imunotoksično i genotoksično dejstvo (Mantle i dr., 2010), kod različitih životinjskih vrsta. Novija istraživanja ukazuju da se OTA može smatrati i uzročnikom neurodegenerativnih oboljenja kao što su Parkinsonova i Alzheimerova bolest (Pfohl-Leschkowicz i Manderville, 2007). Od strane Naučnog

komieta za hranu (Scientific Committee on Food – SCF) i Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) propisan je tolerantni nedeljni unos (tolerable weekly intake – TWI) od 120 ng/kg telesne težine OTA (EFSA, 2006a).

Patulin (PT) je poliketidni lakton (4-hidroxy-4H-furo[3,2-c]pyran-2(6H)-one), proizvod sekundarnog metabolizma plesni *Aspergillus clavatus*, *Penicillium patulum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium equinum*, *Penicillium claviforme*. Patulin sintetišuće plesni izolovane su sa žitarica, njihovih proizvoda, kobasica, sireva, voća, ali najčešće sa jabuka i njihovih proizvoda (Soriano, 2007). Međutim, PT je izuzetno nestabilan na supstratima sa visokim sadržajem sulfhidrilnih grupa, kao što su žitarice, meso i sirevi, a temperatura pasterezacije neznatno redukuje sadržaj patulina u proizvodima podvrgnutim ovim vidom termičke obrade (McKinley i Carlton, 1991). Iako je IARC PAT svrstala u grupu 3 kao nekancerogena jedinjenja, ali sa štetnim efektom po zdravlje ljudi (IARC, 1993), značaj PT zasniva se na eksperimentalnim podacima o njegovom neurotoksičnom, imunotoksičnom, genotoksičnom teratogenom i kancerogenom dejstvu (Mahfoud i dr., 2002). JECFA je za PT uspostavila tolerantni dnevni unos (tolerable daily intake – TDI) od 0.4 µg/kg TM/dnevno (WHO, 1995), koji je potvrđen i od strane SCF.

Trihoteceni (TCT) obuhvataju grupu od 200–300 različitih, ali strukturno sličnih mikotoksina (*seskviterpenoida*), proizvoda sekundarnog metabolizma plesni iz roda *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Myrothecium*, *Trichothecium*, *Trichoderma*, *Cylindrocarpon*, *Verticimonosporium*, *Cephalosporium* i *Phomopsis*. TCT su podeljeni u dve grupe u zavisnosti od prisustva makrocikličnog prstena između C-4 i C-15 atoma, na nemakrociklične i makrociklične (He i dr., 2010). Nemakrociklični TCT su podeljeni na grupu A i B. Grupa A se karakteriše funkcionalnom grupom različitom od ketona na poziciji C-8 i predstavlja najznačajniju grupu u koju spadaju T-2, HT-2 toksin i diacetoksiscirpenol (DAS). TCT grupe B poseduju karbonilnu grupu na poziciji C-8, a najznačajniji predstavnici ove grupe su fusarenone-X, deoxinivalenol (DON) i nivalenol. Makrociklični TCT sadrže prsten između C-4 i C-15 sa dve estarske veze, a predstavnici ove grupe su verukarini, roridini, satratoksini i bašarini. Makrociklični TCT su daleko toksičniji u odnosu na nemakrociklične, međutim, za sada su još nedovoljno izučeni. Najznačajniji predstavnik iz grupe A je T-2 toksin koji se smatra najtoksičnijim, dok je najznačajniji predstavnik iz grupe B DON, koji se smatra najzastupljenijim trihotecenom (Krska i dr., 2007). Citotoksični efekat TCT-a zasniva se na inhibiciji sinteze proteina,

DNK, RNK sinteze, inhibiciji mitohondrijalne funkcije, oštećenjima na ćelijskoj membrani i imunopresijom (Rocha i dr., 2005). Žitarice su dominantan izvor TCT-a, dok je izloženost ljudi putem hrane animalnog porekla minornog značaja i ne predstavlja opasnost po zdravlje ljudi (Valenta i Dänicke, 2005; Seeling i dr., 2006; Goyarts i dr., 2007).

DON se prvenstveno javlja kao kontaminant žitarica kao što je pšenica, ječam i kukuruz (EFSA, 2004c) i njihovim proizvodima, dok je nešto ređe utvrđen u ovsu, pirinču, raži i tritikalijama. Hladna i vlažna klima, sa čestim izmenama temperature, pogoduje sintezi DON-a. U stočarskoj proizvodnji DON je poznat kao vomitoksin i faktor odbijanja hrane, prvenstveno kod svinja (Bryden, 2012). Živina je relativno rezistentna na prisustvo DON-a u hrani i odbijanje hrane je zabeleženo samo u uslovima visoke koncentracije (16–20 mg/kg hrane) (EFSA, 2004c). Simptomi akutnog trovanja su nervni poremećaji, hemoragije, iritacije kože, povraćanje, dijareja, oralne lezije (Pestka, 2010). DON se smatra uzročnikom mikotoksikoza ljudi u Rusiji, Japanu, Kini i Indiji. Zbog nedovoljnog broja podataka o njegovom kancerogenom svojstvu IARC je DON svrstala u grupu 3 kao nekancerogena jedinjenja, ali sa štetnim efektom po zdravlje ljudi (IARC, 1993). Od strane SCF i JECFA propisan je TDI od 1 µg/kg TM/dnevno (SCF, 2002).

T-2 i HT-2 spadaju u najtoksičnije toksine iz grupe trihotecena. Utvrđen je kao kontaminant pšenice, kukuruza, ovsu, ječma, pirinča, leguminoza i njihovih proizvoda (EFSA, 2011a). T-2 toksin je izraziti inhibitor sinteze DNK i proteina i ispoljava snažan imunotoksični, hematotoksični i mijelotoksični efekat (EFSA, 2011a). Imuni sistem je primarni target sistem T-2 toksina kod svinja (Meissonnier i dr., 2008), dok su kod živine zabeležene oralne lezije. Značajno smanjenje otpornosti na uzročnike Gram negativnih bakterija i herpes simpleks virusa zabeleženo je kod eksperimentalnih životinja u slučaju njihove izloženosti T-2 toksinu i DON-u. Na bazi raspoloživih podataka o zastupljenosti T-2 i HT-2 toksina EFSA (CONTAM panel) je u svom mišljenju, zaključila da je izloženost životinja T-2 i HT-2 toksinima putem hrane niska, a time i rizik po zdravlje životinja (EFSA, 2011a). JECFA i CONTAM grupa EFSA-e propisali su TDI od 0,1 µg/kg TM/dnevno, pojedinačno ili zbirno za ova dva toksina (EFSA, 2011a).

Zearalenon (ZEA) (F-2 toksin) ZEA je nesterooidni metabolit plesni iz roda *Fusarium*, prvenstveno *F. culmorum*, *F. graminearum* i *F. heterosporum* (Bottalico, 1998). Pripada grupi fitoestrogena i do sada je identifikovano 15 različitih derivata koji poseduju različitu biološku aktivnost. Hemijski, ZEA

je lakton 6- β -rezorcinolne kiseline i u osnovi ima sličnu konfiguraciju (fenolno jezgro) kao estrogene supstance (estradiol, estriol i stilbestrol) (Hagler i dr., 2001). Osim što je toksičan za ljude i životinje, ZEA je neophodan plesnima u polnom razmnožavanju. Prisustvo ZEA je najčešće utvrđeno u kukuružu i ostalim žitaricama, a utvrđen je i u soji (Bhat i dr., 2010). Zastupljenost i koncentracija ZEA varira od godine do godine i od regiona, u zavisnosti od klimatskih faktora koji pogoduju sintezi ZEA. Zearalenon se u organizmu metaboliše u zearalenol (α -zearalenol i β -zearalenol) i zearalanol. Izomerna forma ZEA, (α -zearalenol) ispoljava tri puta veći estrogene efekat od ZEA, dok β -zearalenol ima manji estrogene efekat. Hiperestrogenizam je najznačajniji biološki efekat ZEA. Kao i estrogene hormoni mehanizam dejstva ZEA se zasniva na vezivanju za estrogene receptore proteinske prirode u citosolu, a zatim se kompleks mikotoksin-receptor transportuje u jedro ćelije (Fink-Gremmels i Malekinejad, 2007). Relativna sposobnost vezivanja ZEA i njegovih metabolita za citoplazmatske receptore uterusa pacova kreće se sledećim redosledom α -zearalanol > α -zearalenol > β -zearalanol > β -zearalenol. Na dejstvo ZEA najosetljivije su svinje, dok su preživari i naročito određene vrste živine (ćurke, guske, patke) manje osetljive na prisustvo ZEA u hrani (Müller, 1978). Iako je kancerogeno dejstvo ZEA dokazano na eksperimentalnim životinjama, za sada još ne postoje jasni podaci o njegovom kancerogenom i/ili mutagenom dejstvu na ljudima (IARC, 1993). Prisustvo ZEA u namirnicama povezano je sa pojavom prevremenog puberteta kod dece (Maragos, 2010). Slobodne i konjugovane forme ZEA utvrđene su u kravljem mleku, međutim za sada ne postoje jasni podaci da li rezidue ZEA u mleku predstavljaju potencijalni rizik po zdravlje ljudi. Procenom rizika od ZEA sprovedene od strane SCF JECFA i tolerantni dnevni unos ZEA se kreće od 250 do 500 ng/kg TM (JECFA, 2000; EFSA, 2011b). U prirodnim uslovima često se susreću supstance koje su po strukturi vrlo slične ZEA, ali poseduju različitu biološku aktivnost kao curvularin (*P. expansum*) i radicol (*Nectaria radicolica*).

Fumonizini (FBs) predstavljaju grupu od šest toksina izolovanih iz kulture plesni *Fusarium moniliforme* (Gelderblom i dr., 1988). Fumonizini serije A (A_1 i A_2) su amidi, dok iz serije B (B_1 , B_2 , B_3 i B_4) poseduju slobodne amine. Fumonizini su strukturno slični sfingolipidu sfingozinu, koji je u visokoj koncentraciji zastupljen u nervnom tkivu. Toksičnost fumonizina ispoljava se kroz blokadu sinteze sfingolipida (Steyn i dr., 2009). Po svojoj toksičnosti, najznačajniji je FB_1 (EFSA, 2005a). Fumonizine sintetiše plesni iz roda *Fusarium* i to *F. moniliforme*, *F.*

proliferatum, *F. nygamai*, *F. anthophilum*, *F. dlamini* i *F. napiforme* i njegovo prisustvo najčešće je utvrđeno u kukuružu i proizvodima od kukuruza (EFSA, 2005a). Prisustvo plesni *Fusarium moniliforme* u hrani već više od dve decenije dovodi se u vezu sa pojavom oboljenja kod ljudi i životinja sa fatalnim ishodom. Fumonizin B_1 izolovan je tokom istraživanja u Južnoj Africi gde je prisustvo plesni *F. moniliforme* u hrani dovelo do ozbiljnih zdravstvenih poremećaja kod životinja (Gelderblom i dr., 1988). Naknadna istraživanja potvrdiće ovu tezu, tako da se danas sa sigurnošću zna da su leukoencefalomalacija kod konja, edem pluća kod svinja (Morgavi i Riley, 2007) i pojava ezofagealnog kancera kod ljudi (Lerda i dr., 2005) vezane za prisustvo sekundarnih metabolita plesni *F. verticilloides* (ex *F. moniliforme*) i *F. proliferatum* u hrani. Fumonizini serije A (A_1 i A_2) i serije B (B_1 , B_2 , B_3 i B_4) strukturno su slični sfingolipidu sfingozinu, koji su u visokoj koncentraciji zastupljeni u nervnom tkivu. Studije sa radioobeleženim FB_1 ukazuju na prisustvo rezidua FB_1 u jetri i bubrezima svinja. Postoje jasni dokazi o citotoksičnom i kancerogenom dejstvu FB_1 na životinjama (Gelderblom i dr., 2001). Klasifikovan je kao mogući kancerogeni agens za ljude i svrstan je u grupu 2B (IARC, 2002). JECFA je evaluirala toksično dejstvo FBs i uspostavila provizorni tolerantni dnevni unos (provisional tolerable weekly intake – PTWI) od 2 μ g/kg TM/dnevno (WHO, 2001), koji je potvrđen i od strane Naučnog komiteta (SCF, 2003).

I pored toga što relativno mali broj radova ukazuje da prisustvo rezidua i/ili metabolita zearalenona, fumonizina i deoksinivalenola ne predstavlja opasnost po zdravlje ljudi (Pettersson, 2004), smatra se da fuzariotoksini dovode do najvećih ekonomskih gubitaka, kako direktnih zbog kontaminacije žitarica (Wu, 2007), tako i indirektnih nastalih poremećajima zdravstvenog stanja kod životinja (Yazar i Omurtag, 2008). Vrlo često je utvrđena kozastupljenost fuzariumtoksina u kontaminiranim uzorcima (EFSA, 2004c). U većini slučajeva toksični efekti mogu rezultirati aditivnim i/ili sinergističkim efektom više mikotoksina (Grenier i Oswald, 2011).

Ergotalk aloidi (EAs) predstavljaju proizvod sekundarnog metabolizma plesni roda *Claviceps* (*C. purpurea* i *C. sclerotia*). Ergokornin, ergokristin, ergokriptin i ergotamin predstavljaju farmakološki najaktivnije peptide i glavne alkaloidne *C. purpurea*. *C. sclerotia* sintetiše preko 100 raznorodnih hemijskih jedinjenja (Lacey, 1991), od kojih su sa toksikološke tačke gledišta najznačajniji alkaloidi poreklom od lizergične kiseline i klavin alkaloidi poreklom od dimetilergolina. Derivati lizergične kiseline su podeljeni u dve grupe i to na proste kisele amide (ergomitrin) i peptide koji su dalje podeljeni na ergotamin,

ergotiksin i ergoksin grupu (EFSA, 2012). Ergotalk aloidi su vrlo slični biogenim aminima stoga deluju na neurotransmitterske receptore, prevashodno na adrenergičke, dopaminergičke i seronergičke receptore. Njihov efekat na receptore dovodi do ishemije, naročito u ekstremitetima i promenama u hormonalnom statusu (EFSA, 2012). Za sada nema dovoljno relevantnih podataka koji ukazuju da se ergotalkalo-di akumuliraju u tkivima životinja i primarnim proizvodima (EFSA, 2005b).

Za pojedine mikotoksine CONTAM Panel je izradio naučno mišljenje i očekuje se stupanje na snagu zakonske regulative.

Sterigmatocistin (STC) je proizvod sekundarnog metabolizma plesni *Aspergillus nidulans* i *A. versicolor*. Strukturno je sličan aflatoksinima, sadrži ksantonsko jezgro vezano za bifuransku strukturu, te su i toksični efekti STC slični efektima AFT (Yaling i dr., 2012). Dovodi do oštećenje jetre i renalne nekroze kod pacova. Smatra se da je uključen u etiologiju hronične bolesti jetre kod ljudi u Africi (Wyatt, 2005). Zabeleženi su i toksikološki, mutageni i karcinogeni efekti kod životinja (Versilovskis i De Saeger, 2010). Mada podaci iz literature ukazuju da je STC manje zastupljen u odnosu na aflatoksine, smatra se da analitičke tehnike za njegovo dokazivanje nisu još dovoljno razvijene, tako da male količine sterigmatocistina u hrani još uvek ostaju nedetektovane. IARC je svrstala STC u 2B grupu kancerogena kao mogući karcinogeni agens za ljude (IARC, 1993). Opisana je toksičnost i derivata STC. Istraživanja ukazuju da je dimetilsterigmatocistin karcinogen, a da dihidrosterigmatocistin inhibira mitozu i spajanje markiranih timidina i uridina, što upućuje na inhibiciju sinteze DNK i RNK. Suprotno tome, dihidro-O-metilsterigmatocistin ispoljava slab inhibitorni uticaj na mitozu i sintezu DNK i RNK. Lipidna peroksidacija se javlja kao sekundarni mehanizam toksičnosti STC (Sivakumar i dr., 2001).

Alternaria toksini su sekundarni metaboliti plesni roda *Alternaria*, prvenstveno *A. alternata*. Pretpostavlja se da grupu alternaria toksine čine oko 30 mikotoksina. Među najznačajnije alternaria toksine spadaju alternariol, arternariol metil etar, altenuen, altertoxin (ATX I, II i III) i tenuazonska kiselina (Ostry, 2008). Prisustvo alternaria toksina najčešće je utvrđeno u voću i povrću, međutim podaci o zastupljenosti i koncentraciji alternaria toksina u žitaricama su nedovoljni (Asam i dr., 2011). Podaci o toksikološkim efektima ukazuju da alternaria toksini ispoljavaju citotoksični, fetotoksični i/ili teratogeni efekat (Logrieco i dr., 2009). Pojava ezofagealnog kancera kod ljudi u pojedinim regionima Kine dovodi se u vezu sa prisustvom alternaria toksina u žitaricama (Liu i dr., 1992). Iako je potencijalni rizik

po zdravlje ljudi kao i zastupljenost ove vrste toksina dokazana, još nisu uspostavljene maksimalno dozvoljene količine za alternaria toksine.

Ciklopiazonska kiselina (CPA) je indol-traminska kiselina. CPA je prvenstveno izolovana iz kulture plesni *Penicillium cyclopium* Westling, ali naknadnim istraživanjima utvrđeno je da i plesni *Aspergillus* vrste, kao što su *A. flavus*, *A. tamarii* i *A. versicolor*, mogu biti producenti CPA. Ciklopiazonska kiselina je utvrđena kao kontaminant kikirikija (Fernandez i dr., 2001), kukuruza (Lee i Hagler, 2001), sira i mleka (Oliveira i dr., 2006). S obzirom da se radi o proizvodu sekundarnog metabolizma plesni *Penicillium* i *Aspergillus* vrsta, vrlo često se susreće kozastupljenost CPA sa ostalim aspergilo i penicilinotoksinima (Oliveira i dr., 2006). Toksični efekti CPA su opisani kod živine, svinja i ovaca i to prvenstveno na organima digestivnog trakta (Bryden, 1991).

Citrinin (CT) je žuta, kristalna, optički aktivna supstanca, stabilna u organskim rastvaračima, ali ne i u kiseloj i alkalnoj sredini. Hemijski, citrinin je biciklični derivat fenola izolovan iz kulture plesni *Penicillium citrinum* i *P. viridicatum*, s toga je često kozastupljen sa OTA (Bennett i Klich, 2003). Naknadnim istraživanjima utvrđeno je da citrinin mogu sintetisati i *P. expansum*, *P. lanosum*, *P. verrucosum*, kao i *Aspergillus candidus* i *A. terreus*. Citrinin je nefrotoksičan mikotoksin (Singh i dr., 2008) koji ispoljava sinergističko dejstvo sa OTA pa se smatra i mogućim uzročnikom BEN-a (Vrabcheva i dr., 2000).

Tremorogeni mikotoksini pripadaju grupi proizvoda sekundarnog metabolizma saprofitskih plesni uglavnom iz roda *Aspergillus* i *Penicillium*, kao i plesni iz roda *Claviceps* i *Neotyphodium* (*Acremonium*) (Betina, 1994). Tremorogeni mikotoksini u svom sastavu sadrže modifikovani indolski prsten, koji predstavlja njihovu strukturnu i biološku karakteristiku. U zavisnosti od broja atoma azota u molekulu, tremorogeni mikotoksini su podeljeni u četiri grupe: 1. bez atoma azota (verrucosidin), 2. sa jednim atomom azota (paspalitremitri, penitremitri, jantitremitri i lolitremitri), 3. sa tri atoma azota (fumitremitri-ve-rukulogeni) i 4. tremorogeni mikotoksini sa četiri atoma azota (triptokivalini). Tremorogeni mikotoksini prvenstveno deluju na centralni nervni sistem i dovode do tremora, konvulzija i smrti. Mehanizam dejstva tremorogenih mikotoksina zasniva se na interferiranju sa neurotransmiterima na sinapsama (Weiser i Fink-Gremmels, 1991). Tremorogeni mikotoksini su utvrđeni kako u hrani za životinje, tako i u hrani za ljude kontaminiranim plesnima (Tournas, 1994). Naročito opasnost predstavljaju tradicionalno proizvedeni fermentisani proizvodi od mesa na

kojima se može spontano razviti toksogena mikroflora (Andersen, 1995).

Sredinom 1980. prvi put pojavila se teza o tzv. maskiranim i/ili konjugovanim mikotoksinima, na bazi pojave slučajeva klinički manifestne slike mikotoksikoza kod životinja koja nije bila u korelaciji sa niskim sadržajem mikotoksina u hrani. Ova pojava pripisana je neidentifikovanim, konjugovanim formama mikotoksina i pigmentima plesni *Fusarium graminearum*, kao što je aurofusarin, koji podležu hidrolizi u digestivnom traktu životinja (Berthiller i dr., 2011). Tokom svog metabolizma, biljke mogu da transformišu mikotoksine u konjugovane forme, tako da su prirodne pojave zearalenone glucozida (Berthiller i dr., 2009a) i deoxynivalenol 3-glucozida (Berthiller dr., 2009b) već opisane.

Smatra se da hemijska struktura mikotoksina igra značajnu ulogu u toksičnosti pojedinih mikotoksina (Uraguchi i Yamazaki, 1978) s obzirom da se promenom strukture (otvaranje laktonskog ili epoksidnog prstena) stvaraju manje toksična ili netoksična jedinjenja, a u nekim slučajevima i toksičniji metaboliti (aflatoksikol, zearalenol). Mikotoksini spadaju u relativno termostabilna jedinjenja koje konvencionalni načini pripreme hrane ne uništavaju (Soriano, 2007).

Identifikacija hazarda

Sumiranje toksikoloških ispitivanja u odnosu na uticaj supstanci na zdravlje ljudi i životinja, kao i uticaja na spoljašnju okolinu, zasniva se na međusobnoj saradnji tri organizacije koje su u sastavu Svetske zdravstvene organizacije (WHO) i to: Internacionalnog programa za hemijsku bezbednost (IPCS – *International Programme on Chemical Safety*), Internacionalne agencije za izučavanje raka (IARC) i Zajedničkog FAO/WHO ekspertskog komiteta za aditive hrane i kontaminante (JECFA – *Joint FAO/WHO Committee on Food Additives and Contaminants*). Unutar Evropske unije (EU), od 2002. god. za ovaj deo aktivnosti formirana je EFSA, koja preko Naučnih panela obezbeđuje naučne savete i tehničku pomoć zakonodavstvu EU u svim segmentima koji imaju direktan ili indirektan uticaj na bezbednost hrane za ljude i životinje.

Primenjujući paradigmu „Jedno zdravlje“ zajedničku inicijativu WHO i Svetske organizacije za zaštitu zdravlja životinja (OIE), longitudinalni i integrisani pristup bezbednosti hrane („od farme do trpeze“) uključuje zdravlje i dobrobiti životinja. U tom integrisanom pristupu, hrana za životinje predstavlja prvu kariku u lancu bezbednosti hrane (EC, 2002/32). Monitoring hrane za životinje i postavljanje MDK za prisustvo hemijskih kontaminata u

hrani pored toga što treba da zaštiti zdravlje životinja ima za cilj i da spreči pojavu rezidua u tkivima životinja i njihov ulazak u lanac ishrane. Iako se procena rizika značajnih za ljude i životinje odvija nezavisno, principi i metode su isti (WHO, 2009).

Procena izloženosti

Rizik vezan za mikotoksine zavisi od toksikoloških efekata i stepena izloženosti ljudi i životinja mikotoksinima. Toksikološki efekti su manje-više poznati i jednaki su za celokupnu svetsku populaciju, ali stepen kontaminacije (koncentracija) mikotoksina u pojedinim vrstama hrane se razlikuje od regiona do regiona. JECFA je na svojoj 56. sednici (JECFA, 2001) detaljno evaluirala toksikološke efekte mikotoksina (toksikokinetiku i toksikodinamiku). Pored toga, predmet razmatranja su bile i analitičke metode za njihovo dokazivanje, uzorkovanje, način procene izloženosti i mere prevencije i kontrole mikotoksina.

Procena izloženosti je veoma složen proces koji zahteva multidisciplinarni pristup i u rešenje ovog problema uključene su naučne discipline kao što je: toksikologija, analitička hemija, nutricionizam i matematičko-statističke discipline. U osnovi postoje dva koncepta procene izloženosti stanovništva mikotoksinima. To su *deterministički* i *probabilistički* model. Klasičan *deterministički* pristup procene izloženosti stanovništva mikotoksinima se zasniva na zastupljenosti mikotoksina u pojedinim vrstama hrane i njihovom stepenu konzumiranja. Međutim, na konzumiranje hrane utiču brojni faktori od kojih su najznačajniji: individualne varijacije, starost, sezonske i geografske varijacije, kulturološke, verske i ekonomske razlike, stoga je deterministički model predmet osporavanja i kao alternativa ovom modelu nameće se probabilistički metod koji tokom proračuna uzima u obzir gore navedene faktore koji utiču na konzumiranje hrane. Veoma važno telo Evropske komisije je SCOOP (Scientific Cooperation on Questions relating to Food), formirano sa ciljem da na naučnim principima pruži podatke o stepenu konzumiranja određenih vrsta namirnica (EFSA, 2011c).

Za pravilnu procenu izloženosti ljudi mikotoksinima neophodni su podaci o stepenu kontaminacije (koncentracija) mikotoksina u pojedinim vrstama hrane. Ovi podaci dobijaju se sistemskim praćenjem (monitoring), a za čije sprovođenje su neophodni preduslovi od kojih su najznačajniji plan uzorkovanja, pravilno uzorkovanje i primena priznatih i poznatih analitičkih procedura za dokazivanje mikotoksina. Analitička procedura se sastoji od tri različita, ali integralno povezana dela i to:

uzorkovanje, priprema uzorka i metode analize. Cilj uzorkovanja je dobiti uzorak koji će u potpunosti reprezentovati sve osobine koje ima odgovarajući kontigent hrane u celini, s toga uzorkovanje predstavlja jednu od najkritičnijih tačaka u analitici mikotoksina. Zbog neravnomerne distribucije mikotoksina u uskladištenim žitaricama (*Casado i dr.*, 2009), greške u analitici mikotoksina koje nastaju zbog nepravilnog uzorkovanja kreću se i do 90% (*Van Egmond i dr.*, 2007). Prilikom uspostavljanja kriterijuma za uzorkovanje treba uzeti u obzir dva značajna faktora, a to su: zaštita zdravlja potrošača (lažno negativan – *consumer's risk*) i zaštita proizvođača (lažno pozitivan – *producer's risk*). Izrada procedure za pravilno uzorkovanje predstavlja internacionalni problem i predmet stalnih istraživanja (*EC*, 2006). U osnovi princip se zasniva na uzimanju od 3–100 inicijalnih uzoraka u zavisnosti od ukupne količine lota, do količine od 10 kg, od koje se nakon homogenizacije uzima uzorak za laboratorijsku analizu (*EC*, 2010). Uzorak se nakon toga homogenizuje i od homogenizovanog uzorka se uzima uzorak za laboratorijsku analizu. Priprema uzorka predstavlja drugu kritičnu tačku.

Prema utvrđenoj sistemskejskoj toksikološkoj analizi (STA) metod koji se primenjuje za detekciju nepoznate, kao i poznate, supstance u biološkom materijalu mora biti jednostavan, pouzdan, ponovljiv, dovoljno specifičan i brz da istovremeno obuhvati veći broj toksikološki relevantnih jedinjenja. Od tehnika koje se koriste u analitici mikotoksina najzastupljenije su hromatografske metode (TLC, HPLC, GC, LC-UV/MS, LC-MS/MS) i imunoenzimske (*ELISA*). Primena biosenzora i NIR u analitici mikotoksina nisu još naišle na širu primenu. Internacionalne organizacije kao što su AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*) i Evropski komitet za standardizaciju (*Comité Européen de Normalisation – CEN*), evropski ekvivalent ISO (*International Organization for Standardization*), propisale su metode za analizu mikotoksina, koje se stalno inoviraju i unapređuju kroz interlaboratorijske validacione studije u skladu sa savremenim dostignućima struke i nauke. Poslednje izdanje AOAC International (*AOAC*, 2005) sadrži oko 45 validovanih metoda za određivanje mikotoksina. CEN priprema dokumenta koja obezbeđuju specifične kriterijume za različite analitičke metode koje će se koristiti u svrhe službene kontrole (*EC*, 2006). Dobra analitička tehnika i primena osiguranja kvaliteta analitičke procedure (*Analytical quality assurance – AQA*) su osnovni preduslovi za primenu odgovarajuće zakonske regulative. U pogledu pouzdanosti i tačnosti analitičke metode, osiguranje kvaliteta analitičke procedure

obezbeđuje se upotrebom sertifikovanog referentnog materijala mikotoksina (*Emons*, 2006), koji se mogu obezbediti preko Instituta za referentne materijale i merenja (*Joint Research Centre/Institute for Reference Materials and Measurements – JRC/IRMM*). Sastavni deo izveštaja o ispitivanju, pored dobijenog rezultata je i podatak o mernoj nesigurnosti ($X \pm U$) (*Stroka i Van Egmont.*, 2006). Merna nesigurnost je interval u okviru koga se nalazi merna veličina sa određenom verovatnoćom.

Osim primene sertifikovanog referentnog materijala, osiguranje kvaliteta analitičke procedure obezbeđuje se i kroz interlaboratorijsku komparaciju primenom *proficiency* testova. *Proficiency* testovi organizuju se na internacionalnom nivou i mogu biti u organizaciji evropskih (*Food Analysis Performance Assessment Scheme – FAPAS*) i severnoameričkih organizacija (*American Oil Chemists' Society – AOCS*).

Metod „probabilističkog“ načina procene izloženosti stanovništva mikotoksinima, uključuje i podatke dobijene o prisustvu mikotoksina i/ili njihovih metabolita u biomarkerima (krv i urin). Na ovaj način mogu se dobiti pouzdaniji podaci o akutnoj i hroničnoj izloženosti ljudi i životinja mikotoksinima. DON i njegov detoksifikacioni metabolit DON-3-glucuronid (DON-3Glu) često su utvrđeni u urinu ljudi koji su konzumirali hranu kontaminiranu DON-om (*Turner i dr.*, 2008), te se prisustvo ovih metabolita u urinu preporučuje kao biomarker za procenu izloženosti ljudi DON. Odnos između sfingofanina (Sa) i sfingozina (So) (Sa/So) u urinu životinja može se smatrati pouzdanim biomarkerom za procenu izloženosti životinja fumonizinom (*Shephard i dr.*, 2007). Međutim, zbog određenih metaboličkih specifičnosti ova vrsta analize ne pruža pouzdane podatke za procenu izloženosti FBs kod ljudi te se kao biomarker preporučuje FB₁ u urinu (*Silva i dr.*, 2010). Primena biomarkera u proceni izloženosti ljudi i životinja OTA je dosta izučavana. Veoma visoka korelacija utvrđena je između sadržaja OTA i njegovih metabolita u urinu i sadržaja OTA u hrani. *Jonsyn-Ellis* (2000) je utvrdio prisustvo OTa u 96% analiziranih uzoraka urina kod dece iz Sijera Leone, mlađih od pet godina u količini od 0,04–21 ng/mL. Po pitanju mogućnosti upotrebe biomarkera u proceni izloženosti ljudi ZEA do sada nema dovoljno naučnih saznanja da se α -ZOL-glucuronide i β -ZOL-glucuronid mogu naći u urinu ljudi. Ispitivanja toksikokinetike AFT na životinjama ukazuju da se nakon oralnog unošenja, pod normalnim uslovima 50% AFT veoma brzo resorbuju u duodenalnoj regiji i preko portalnog krvotoka dospeva u jetru gde se metaboliše. Od preko 20 metabolita koliko je utvrđeno, u urinu ljudi najčešće su utvrđeni aflatoxin

P1 (AFP1), aflatoksin Q1 (AFQ1), aflatoksin M1 (AFM1) i DNA-adduct (AFB1-N7Guanine). *In vitro* studije na mikrozomalnim ćelijama primata ukazuju da je AFQ1 glavni metabolit AFB1, dok hidrok-silisani metabolit AFM1 predstavlja manje od 10% od ukupnog AFB1 (Neal i dr., 1998). Istraživanja sprovedena u Kini ukazuju da je nivo AFQ1 u urinu 60 puta viši od AFM1. Stoga se AFQ1 preporučuje kao biomarker za procenu izloženosti ljudi AFTB1 (Mykkanen i dr., 2005). Međutim, nedostatak komercijalnog standarda AFQ1 predstavlja ozbiljnu poteškoću u ovim vrstama istraživanja.

T-2 toksin se nakon unošenja u organizam veoma brzo metaboliše. Spektar metabolita i njihov odnos u mnogome zavisi od vrste životinja na kojima su vršena ispitivanja. Glavni metabolički put T-2 toksina je diacetilacija C-4 acetil grupe što dovodi do stvaranja HT-2 toksina (EC, 2009). Ostali metaboliti T-2 triol i T-2 tetraol, su manjeg značaja. Podaci o toksikokinetici i metabolizmu CIT su vema oskudni. Dunn i dr. (1983) identifikovali su u urinu pacova dihidrocitron. Niske količine (2–5 ng/mL) CIT utvrđene u mokraći ljudi, ukazuju na iako nizak ali mogući način ekskrecije CIT (Phillips i dr., 1980). Međutim, nedostatak komercijalnih standarda mikotoksina i analitičkih metoda za dokazivanje mikotoksina i/ili njihovih metabolita u različitim materijalima, za sada predstavlja poteškoću u izučavanju procene izloženosti i procene štetnog dejstva mikotoksina.

Podaci o proceni izloženosti treba da pruže podatke relevantne za karakterizaciju rizika, odnosno poređenje dobijenih podataka sa tolerantnim dnevnim unosom (TDI) mikotoksina propisanim od strane JECFA i EFSA i vezan je prevashodno za zastupljenost mikotoksina u hrani s jedne strane i socioloških, ekonomskih i kulturoloških navika u ishrani stanovništva, sa druge strane.

Regulatorni aspekt

Zbog dokazane toksičnosti i kancerogenih svojstava pojedinih mikotoksina sadržaj mikotoksina u hrani je zakonski propisan. Prema podacima FAO (2004), Van Egmond i dr. (2007) najmanje 100 zemalja u svetu ima zakonske propise kojima je regulisano prisustvo mikotoksina u hrani za ljude i životinje, što je u odnosu na 1995. povećanje za oko 30%. Ukupna ljudska populacija u zemljama u kojima postoje MDK (maksimalno dozvoljene količine) za mikotoksine, reprezentuje 87% svetske populacije. Zakonska regulativa u zemljama EU se stalno evaluira i unapređuje, shodno naučnim saznanjima i tehnološkim dostignućima.

Veoma restriktivna zakonska regulativa u visoko razvijenim zemljama, dovodi do sprečavanja slobodne trgovinske razmene naročito sa zemljama u razvoju, tako da velike količine hrane kontaminirane mikotoksinima ostaju za lokalnu upotrebu (Wu i Munkvold, 2008).

Na donošenje zakonske regulative koja propisuju MDK mikotoksina u hrani za ljude i životinje utiče više faktora kako naučne i stručne, tako i socio-ekonomske prirode. U najznačajnije faktore spadaju: 1) dostupnost toksikoloških podataka o mikotoksinima, 2) saznanja o zastupljenosti, odnosno izloženosti ljudi i životinja mikotoksinima, 3) poznavanje distribucije mikotoksina u uzorku, 4) razvijenost analitičkih metoda za njihovo dokazivanje, 5) usklađenost sa međunarodnim zakonodavstvom koje treba da je u funkciji slobodnog protoka robe i kapitala i 6) snabdevanje stanovništva dovoljnim količinama hrane. Prva dva faktora pružaju informacije neophodne za analizu rizika u delu koji se odnosi na identifikaciju hazarda i procenu izloženosti, dok su treći i četvrti faktor bitni za sprovođenje zakonske regulative, kroz pravilno uzorkovanje i primenu odgovarajuće analitičke procedure. Poslednja dva faktora su socio-ekonomske prirode, ali su jednako značajni prilikom uspostavljanja maksimalno dozvoljenih količina mikotoksina u hrani.

Važan činilac u svetskoj ekonomiji predstavlja Svetska trgovinska organizacija (World Trade Organization – WTO), čije članice su vezane Sporazumom o primeni sanitarnih i fitosanitarnih mera (Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures – SPS Agreement) koje, direktno ili indirektno, mogu da utiču na međunarodnu trgovinu. Članice su dužne da osiguraju da se svaka sanitarna ili fitosanitarna mera primenjuje samo u obimu koji je neophodan da se zaštiti život i zdravlje ljudi, životinja i biljaka, da je zasnovana na naučnim principima procene rizika i da se ne održava na snazi bez dovoljno naučnog dokaza – ALOP koncept (*Appropriate Level Of Protection*) (FAO, 2006).

Kao važna karika u evropskom zakonodavstvu je Sistem brzog obaveštavanja i uzbunjivanja RASFF (*Rapid Alert System for Food and Feed*) kao mreža za izveštavanje o direktnom i indirektnom riziku po zdravlje čiji je uzrok hrana i hrana za životinje. RASFF predstavlja efikasan sistem brzog uzbunjivanja, odnosno obaveštavanja o zdravstveno neispravnoj hrani i hrani za životinje koja se detektuje na tržištu. U nastojanjima da se unapredi postojeći sistem bezbednost hrane i sledstveno utiče na smanjenje bolesti prouzrokovanih ili prenesenih hranom, naša zemlja je donela set propisa koji proističu iz Zakona o bezbednosti hrane, kojima je regulisano sistemsko praćenje rezidua štetnih

materija kod životinja, hrane životinjskog porekla i hrane za životinje (*Pravilnik*, 2009), odgovornost proizvođača za bezbednost i kvalitet hrane (*Pravilnik*, 2010) i MDK za mikotoksine u hrani (*Pravilnik*, 2010. i 2013). Međutim i pored određenih nedostataka i neusaglašenosti sa Direktivama i Preporukama EU naša zemlja pripada grupi malobrojnih zemalja koje imaju uspostavljene MDK za različite mikotoksine, što može predstavljati značajnu prednost pri harmonizaciji nacionalne regulative sa regulativama EU.

Ekonomski faktor

Ekonoske štete nastale usled kontaminacije hrane mikotoksinima je veoma teško proceniti iz više razloga. Prisustvo mikotoksina u hrani je nepredvidljivo jer se uslovi za infekciju, razvoj plesni i sintezu toksina menjaju u zavisnosti od klimatskih i drugih faktora. Smatra se da su ljudi i životinje konstantno izloženi istovremenom delovanju nekoliko mikotoksina i to najčešće u niskim koncentracijama. Podaci o potencijalnim interakcijama i štetnim efektima nastalim istovremenim delovanjem nekoliko mikotoksina na organizam ljudi i životinja su još uvek nedovoljni. Ishrana životinja hranom kontaminiranom mikotoksinima može dovesti do velikih ekonomskih gubitaka i ozbiljnih zdravstvenih poremećaja koji se ogledaju u povećanom mortalitetu i morbiditetu, poremećaju produktivnih i reproduktivnih sposobnosti i povećanim troškovima lečenja (*Bryden*, 2004). Stoga u proceni ekonomske štete moraju se uzeti u obzir epidemiološki podaci, uključujući klinička i laboratorijska istraživanja, direktne i indirektno štete nastale kontaminacijom hrane, upotreba aditiva u cilju smanjenja štetnih efekata mikotoksina, a kao jedan od vrlo bitnih ekonomskih gubitaka je gubitak poverenja kod potrošača u bezbednost hrane (*Vardon i dr.*, 2003).

U skladu sa procenama Organizacije za hranu i poljoprivredu (FAO), 25% od ukupne godišnje svetske proizvodnje biljnih kultura je kontaminirano mikotoksinima (*CAST*, 1989), dok je verovatno veliki deo kontaminiran sa još neidentifikovanim mikotoksinima, te se svetski gubici hrane usled prisustva mikotoksina procenjuju u milijardama dolara. Samo u SAD se godišnji gubici zbog kontaminacije useva aflatoksinima, fumonizinom i DON procenjuju na milijardu dolara na godišnjem nivou (*Wu*, 2004). Štete u proizvodnji i izvozu hrane za životinje i mlečnih proizvoda iz Srbije koje su nastale zbog kontaminacije mleka i kukuruza aflatoksinima tokom 2012–2013. godine procenjuju se na oko 100 i 125 miliona eura.

Mere za sprečavanje štetnih efekata mikotoksina

Iako su za sprečavanje ili redukciju štetnih efekata mikotoksina na zdravlje ljudi i životinja razvijene mnoge strategije, za sada još nije razvijen jedinstven metod koji bi bio podjednako efikasan za sve mikotoksine u različitim supstratima (*Shapira i Paster*, 2004). Uopšteno, postoje mere koje se sprovode u cilju prevencije kontaminacije hrane plesnima i mikotoksinima i tretmani koji se sprovode u cilju smanjenja toksičnih efekata nastalih kontaminacijom hrane mikotoksinima.

Sama produkcija toksina je pre svega uslovljena genetskim faktorima, ali značajno zavisi od uslova sredine u kojoj plesni rastu kao što su: sastav supstrata, vlažnost, aktivnost slobodne vode (a_w), temperatura, stepen oštećenja zrna, koncentracija O_2 i CO_2 , pH sredine, ukupan broj plesni, udeo toksogenih sojeva u mikopopulaciji, opterećenost sporama, prisustvo kompetitivne mikroflore, strukture skladišnog prostora i dr. (*Bhat i dr.*, 2010).

Prevenција

Prevenција kontaminacije hrane mikotoksinima odvija se još na polju pre žetve (*Pre-harvest strategies*) i tokom skladištenja (*Post-harvest strategies*). Teoretski, pristup prevenciji kontaminacije na polju sastoji se u primeni „dobre poljoprivredne prakse“ (*GAP*). *GAP* se sprovodi kroz selekciju useva otpornih na stres, a time i infestaciju parazitima, pravilnu irigaciju, pravilno prehranjivanje biljaka, kontrolu štetočina, primenu pesticida, rotaciju useva (*Bryden*, 2009). U Nemačkoj (*Medianer*, 1997) je preko 25% useva pod pšenicom poreklom od rezistentnih varijeteta. Nažalost selekcija u pogledu dobijanja apsolutno mikotoksin rezistentnih useva, dala je samo delimičan uspeh i to kod GMO kukuruza (*Bryden*, 2012). U skladištu, preventivne mere u cilju smanjenja kolonizacije plesni i sinteze mikotoksina zasnivaju se na korišćenju fizičkih i hemijskih metoda. Održavanje niske temperature u skladištu i kontrola vlažnosti osnovni su principi fizičkih metoda (*EMAN*, 2004). U uslovima kada je primena fizičkih metoda onemogućena, primenjuju se hemijske metode. Utvrđeno je da preko 100 hemijskih jedinjenja inhibira rast plesni i sintezu mikotoksina. U zavisnosti od supstrata koriste se fungicidi (*Varga i Kozakievicz*, 2006), natrijum-sorbat ili kalcijum-propionat (*Arroyo i dr.*, 2005). Nove strategije, izučavaju mogućnost primene antioksidanata kao što su vanilinska i 4-hidroksi benzoeva kiselina (*Palumbo i dr.*, 2007) ili esencijalnih ulja ekstrahovanih iz biljaka, prvenstveno *Thymus vulgaris* ili *Aframomum danielli* (*Aroyeun i Adegoke*,

2007). Dobra skladišna praksa (GSP), dobra higijenska praksa (GHP) i dobra proizvođačka praksa implementiranih u integrisani sistem kontrole bezbednosti hrane u svim fazama proizvodnje i distribucije (HACCP) predstavljaju pouzdane metode u prevenciji sinteze mikotoksina (Akerman i dr., 2010).

Tretman

U slučajevima kada se kontaminacija mikotoksinima ne može sprečiti, primenjuju se mere detoksikacije koje podrazumevanju primenu fizičkih, hemijskih ili mikrobioloških postupaka sa ciljem eliminacije ili degradacije mikotoksina u manje toksična ili netoksična jedinjenja (Kabak i dr., 2006) i inhibicija apsorpcije mikotoksina iz kontaminirane hrane primenom adsorbenata (detoksifikacija). Od fizičkih metoda najčešće se primenjuje tretiranje toplotom i zračenje (gama, X zraci, UV svetlost) (Aziz i dr., 2004), a može da se koristi mikronizacija, tostiranje, ekstrudiranje i fizička separacija. Većina mikotoksina je termostabilna, tako da temperaturni režimi koji se uobičajeno koriste u prehrambenoj industriji samo delimično dovode do njihovog razaranja (Scudamore i dr., 2004), a ostali tretmani imaju vrlo malu praktičnu primenu.

Veliki naponi su učinjeni kako bi se pronašle ekonomski prihvatljive mere za destrukciju mikotoksina u netoksične produkte upotrebom različitih hemijskih sredstava. Hemijske metode degradacije mikotoksina zasnivaju se na korišćenju kiselina, baza, aldehida, oksidirajućih supstanci i nekih gasova. Alkalna sredstva kao što je amonijak, natrijum i kalcijum hidroksid se koriste prvenstveno za destrukciju aflatoksina, međutim ona nisu prihvaćena od strane FDA (Food and Drug Administration) (Park i Price, 2001). Takođe, jedna od hemijskih metoda je ozonizacija. Razvojem elektrohemijskih tehnika, omogućena je primena ozona u svrhe detoksifikacije (Young i dr., 2006). Iako se primenom hemijskih sredstava skoro kompletno razaraju mikotoksini, pojedina sredstva dovode do značajnih nutritivnih gubitaka i negativnog uticaja na palatabilitet (Huwig i dr., 2001).

Biološki metodi dekontaminacije zasnivaju se na mogućnosti da različiti mikroorganizmi (bakterije, aktinomicete, kvasci, gljivice, alge) poseduju enzimsku sposobnost da razgrade mikotoksine. Dekontaminacija biodegradacijom se postiže fermentativnim i bakterijskim procesima. Mehanizam fermentativne biodegradacije zasniva se na sposobnosti određenih mikroorganizama (*Saccharomyces cerevisiae*) da enzimatskim aktivnostima (epihidroksilaza, ligaza, keto-enol-tautomeraza) stvaraju manje toksična ili netoksična jedinjenja (Schatzmayr i dr., 2006). Od mikroorganizama, za biodegradaciju

mikotoksina najčešće se koristi *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Butyribrio*, *Phenyllobacterium*, *Pleurotus*, *Saccharomyces*, *Bacillus* i *Acinetobacter* vrste (Varga i dr., 2005; Fuchs i dr., 2008). S obzirom da se biološka degradacija mikotoksina zasniva na enzimskom delovanju, postoje pokušaji da se enzimi mikroorganizama ekstrahuju i primene u praksi (Pasteiner, 1998).

Treći vid i verovatno najprihvatljivija strategija za smanjenje toksičnih efekata mikotoksina (detoksifikacija) je inhibicija apsorpcije mikotoksina iz kontaminirane hrane, odnosno korišćenje adsorbenata. Različite grupe supstanci se primenjuju u te svrhe (Huwig i dr., 2001; Jouany, 2007). Aluminosilikati, gline i zeolitski minerali spadaju u najčešće primenjene grupe adsorbenata. Najveći broj adsorbenata neorganskog porekla deluje po principu izmene katjona odnosno „molekulskog sita“. Adsorbenti poseduju veliku površinu koja je naelektrisana čime se obezbeđuje čvrsta veza sa mikotoksinima. Od svih aluminosilikata najviše izučavan je hidratizirani natrijum kalcijum aluminosilikat – HSCAS. HSCAS ima veliki afinitet za aflatoksine i gradi veoma stabilan kompleks, dok je manje efikasan za ostale mikotoksine (Phillips i dr., 2002). Negativna strana primene mineralnih adsorbenata je mogućnost apsorpcije važnih nutritijenata i opisani toksični efekti na životinjama čija je hrana sadržala ovu vrstu aditiva (Huwig i dr., 2001).

U poslednje vreme u upotrebi su adsorbenti organskog porekla, tj. modifikovani manan oligosaharidi, složeni ugljeni hidrati izolovani iz unutrašnjeg sloja ćelijskog zida kvasca. Jedan od osnovnih kriterijuma za primenu adsorbenata je stabilnost veze između sorbenta i toksina, a kao nedostatak njihove primene navodi se mogućnost resorpcije važnih nutritijenata.

Kako je najčešće utvrđena kozastupljenost mikotoksina u hrani, ili preciznije rečeno jedinjenja koja se razlikuju po hemijskim karakteristikama, termostabilnosti, rastvorljivosti i afinitetu za određene adsorbente, detoksifikaciona procedura koja uspešno funkcioniše u uslovima pojedinačne kontaminacije, verovatno neće biti uspešna u uslovima kozastupljenosti mikotoksina (Park i Price, 2001).

Zaključak

Za naučnu procenu rizika u oblasti mikotoksina na području Republike Srbije (RS) za sada nema dovoljno validnih, pouzdanih i na naučnim istraživanjima zasnovanih podataka. Deo razloga za to leži u činjenici da je u proteklih dvadesetak godina došlo do drastičnih promena u strukturi stanovništva i navikama u ishrani, a deo da nisu vršena sistemaska istraživanja u oblasti zastupljenosti mikotoksina. Postojeći

podaci su parcijalni, nesistematizovani i ne pokrivaju dovoljan vremenski period za procenu rizika.

U Republici Srbiji posle potpisivanja Sporazuma o stabilizaciji i pridruživanju, došlo je do usklađivanja propisa sa zakonodavstvom EU. Međutim, to nije dovoljno. Radi uspostavljanja i funkcionisanja integrisanog sistema lanca hrane „od njive do trpeze“ potrebno je razviti i samokontrolu proizvođača, uspostaviti sveobuhvatan, integrisan i koordinirajući sistem za pribavljanje informacija o nacionalnim incidentima, uključujući unutrašnju i

međunarodnu distribuciju kontaminirane hrane, definisan sistem kontaktnih tačaka, kao i brzu reakciju na informacije u slučaju pojave kontaminirane hrane i njenog porekla.

Unapređenjem postojećeg sistema obezbeđiće se podela odgovornosti svih učesnika u lancu bezbednosti hrane (proizvođači, prerađivači, distributeri, potrošači i organi uprave nadležni za nadzor, kao i kontrola i nadzor), koji će biti prepoznati i upoznati sa svojim pravima, obavezama, ovlašćenjima i odgovornostima uz uvažavanje politike održivog razvoja.

Literatura

- Akkerman R., Farahani P., Grunow M., 2010.** Quality, safety and sustainability in food distribution: a review of quantitative operations management approaches and challenges. *OR Spectrum*, 32, 4, 863–904.
- Andersen S. J., 1995.** Compositional changes in surface mycoflora during ripening of naturally fermented sausages. *Journal of Food Protection*, 58, 426–429.
- AOAC International 2005.** Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th edn. AOAC International, Gaithersburg, USA.
- Aroyeun S. O., Adegoke G. O., 2007.** Reduction of ochratoxin A (OTA) in spiked cocoa powder and beverage using aqueous extracts and essential oils of *Aframomum danii*. *African Journal of Biotechnology* 6, 612–616.
- Arroyo M., Aldred D., Magan N., 2005.** Environmental factors and weak organic acid interactions have differential effects on control of growth and ochratoxin A production by *Penicillium verrucosum* isolates in bread. *International Journal of Food Microbiology*, 98, 223–231.
- Asam S., Konitzer K., Rychlik M., 2011.** Precise determination of the *Alternaria* mycotoxins alternariol and alternariol monomethyl ether in cereal, fruit and vegetable products using stable isotope dilution assays. *Mycotoxin Research*, 27, 23–28.
- Azis N. H., Youssef A. Y., 1991.** Occurrence of aflatoxin and aflatoxin-producing moulds in fresh and processed meat in Egypt. *Food Additives and Contaminants*, 8, 321–331.
- Azis N. H., Moussa L. A. A., Far F. M. E., 2004.** Reduction of fungi and mycotoxins formation in seeds by gamma-radiation. *Journal of Food Safety* 24, 109–127.
- Bailey G. S., 1994.** Role of aflatoxin-DNA adducts in the cancer process. In: Eaton, D.L., Groopman, J.D. (Eds.), *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*. Academic Press, San Diego, CA, 137–148.
- Bennett J. W., Klich M., 2003.** Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16, 497–516.
- Berthiller F., Hametner C., Krenn P., Schweiger W., Ludwig R., Adam G., Krska R., Schuhmacher R., 2009a.** Preparation and characterization of the masked Fusarium mycotoxins zearalenone-4O- β -D-glucopyranoside, α -zearalenol-4O- β -D-glucopyranoside and β -zearalenol-4O- β -D-glucopyranoside by MS/MS and 2D-NMR. *Food Additives and Contaminants* 26, 207–213.
- Berthiller F., Corradini R., Dall'Asta C., Marchelli R., Suljok M., Krska R., Adam G., Schuhmacher R., 2009b.** Occurrence of deoxynivalenol and its 3- β -D-glucoside in wheat and maize. *Food Additives and Contaminants* 26, 507–511.
- Berthiller F., Krska R., Domig K. J., Kneifel W., Juge N., Schuhmacher R., Adam G., 2011.** Hydrolytic fate of deoxynivalenol-3-glucoside during digestion. *Toxicology Letters* 30, 206, 3, 264–267.
- Betina V., 1994.** Bioactive secondary metabolites of microorganisms. *Progress in industrial biology*, 30. Elsevier and Ister Science Press, Bratislava, Slovak Republic.
- Bhat R., Rai R. V., Karim A. A., 2010.** Mycotoxins in Food and Feed: Present Status and Future Concerns. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 1, 57–81.
- Bonsi P., Agusti-Tocco G., Palmery M., Giorgi M., 1999.** Aflatoxin B1 is an inhibitor of cyclic nucleotide phosphodiesterase activity. *General Pharmacology* 32, 615–619.
- Bottalico A., 1998.** Fusarium Diseases of Cereals: Species complex and related mycotoxin profiles in Europe. *Journal of Plant Pathology*, 80, 85–103.
- Brase S., Encinas A., Keck J., Nising C. F., 2009.** Chemistry and biology of mycotoxins and related fungal metabolites. *Chemical Reviews*, 109, 3903–4399.
- Bryden W. L., 1991.** Occurrence and biological effects of cyclopiazonic acid, 127-147. In: Mixe, K. and Richard, J.L. (Eds.) *Emerging problem resulting from microbiological contamination*. National Institute of Hygienic Science, Tokyo.
- Bryden W. L., 2004.** Mycotoxins and Animal Production: Insidious Problems Associated with Contaminated Feedstuffs. In *Proceedings of the International Symposium on Recent Advances in Animal Nutrition*, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Bryden W. L., 2009.** Mycotoxins and mycotoxicoses: significance, occurrence and mitigation in the food chain. In: Ballantyne, B., Marrs, T., Syversen, T. (Eds.), *General and Applied Toxicology*, third ed. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK, 3529–3553.
- Bryden W. L., 2012.** Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Animal Feed Science and Technology* 173, 134–158.

- Casado M. R., Parsons D. J., Weightman R. M., Magan N., Origgi S., 2009.** Geostatistical analysis of the spatial distribution of mycotoxin concentration in bulk cereals. *Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 26, 6, 867–873.
- CAST, 1989.** Mycotoxins: Economics and health risks. Task Force Report No. 116. Ames, Iowa.
- Duarte S. C., Lino C. M., Pena A., 2011.** Ochratoxin A in feed of food-producing animals: An undesirable mycotoxin with health and performance effects. *Veterinary Microbiology* 154, 1–13.
- Dunn B. B., Stack M. E., Park D. L., Joshi A., Friedman L., King R. L., 1983.** Isolation and identification of dihydrocitrinone, a urinary metabolite of citrinin in rats, *Journal of Toxicology and Environmental Health* 12, 283–289.
- EC, 2002.** Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council of 7 May 2002 on undesirable substances in animal feed. *Off. J. Eur. Commun. L* 140,
- EC, 2006.** Commission Regulation No. 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. *Official Journal of the European Union L70:12–34.*
- EC, 2009.** Opinion of the Scientific Committee On Food on *Fusarium* Toxins Part 5: T-2 Toxin and HT-2 Toxin, Scientific Committee On Food (SCF), 1983, 2001, 2009.
- EC, 2010.** Commission regulation (EC) 178/2010. *Official Journal of the European Union, L* 52, 32.
- EFSA, 2004a.** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Aflatoxin B1 as undesirable substance in animal feed. *The EFSA Journal*, 39, 1–27.
- EFSA, 2004b.** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to ochratoxin A (OTA) as undesirable substance in animal feed. *EFSA Journal*, 101, 1–36.
- EFSA, 2004c.** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Deoxynivalenol (DON) as undesirable substance in animal feed. *EFSA Journal*, 73, 1–42.
- EFSA, 2005a.** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to fumonisins as undesirable substances in animal feed. *EFSA Journal*, 235, 1–32.
- EFSA, 2005b.** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to ergot as undesirable substance in animal feed. *EFSA Journal*, 225, 1–27.
- EFSA, 2006a.** Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to OCHRATOXIN A in food. *EFSA Journal*, 365, 1–56.
- EFSA, 2011a.** Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of T-2 and HT-2 toxin in food and feed. *EFSA Journal* 2011, 9, 12, 2481.
- EFSA, 2011b.** Scientific opinion on the risks for public health related to the presence of zearalenone in food. *The EFSA Journal* 9, 6, 2197.
- EFSA, 2011c.** Use of the EFSA comprehensive European food consumption database in exposure assessment. *The EFSA Journal* 9, 3, 2097.
- EFSA, 2012.** Scientific opinion on ergot alkaloids in food and feed. *EFSA Journal*, 10, 2798.
- EMAN, 2004.** Fact sheets on HACCP – Prevention and control. Available at: <http://193.132.193.215/eman2/fsheet3_1.asp> (accession date: 2008/03/10).
- Emons H., 2006.** Use of certified reference materials to achieve reliable analytical results. Abstracts of lectures and posters, The World Mycotoxin Forum, The Fourth Conference, Cincinnati, USA, November 6–8, 2006, 63.
- FAO, 2004.** Worldwide Regulation for Mycotoxins in Food and Feed in 2003. *FAO Food and Nutrition Paper* 81. FAO, UN.
- FAO, 2006.** Food safety risk analysis. A guide for national food safety authorities.
- Fernandez P. V., Patriarca A., Locani O., Vaamonde G., 2001.** Natural cooccurrence of aflatoxin and cyclopiazonic acid in peanuts grown in Argentina. *Food Additives and Contaminants*, 18, 1017–1020.
- Fink-Gremmels J., Malekinejad H., 2007.** Clinical effects and biochemical mechanisms associated with exposure to the mycoestrogen zearalenone. *Animal Feed and Sciences and Technology*, 137, 326–341.
- 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.
- Gelderblom W. C. A., Jaskiewicz K., Marasas W. F. O., 1988.** Fumonisin: Novel mycotoxins with cancerpromoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Applied and Environmental Microbiology* 54, 1806–1811.
- Gelderblom W. C. A., Abel S., Smuts C. M., Marnewick J., Marasas W. F., Lemmer E. R., Ramljak D., 2001.** Fumonisin-induced hepatocarcinogenesis: Mechanisms related to cancer initiation and promotion. *Environmental Health Perspectives*, 109, 2, 291–300.
- Goyarts T., Dänicke S., Valenta H., Ueberschär K. H., 2007.** Carry-over of *Fusarium* toxins (deoxynivalenol and zearalenone) from naturally contaminated wheat to pigs. *Food Additives and Contaminants* 24, 369–380.
- Grenier B., Oswald I. P., 2011.** Mycotoxin co-contamination of food and feed: Meta-analysis of publications describing toxicological interactions. *World Mycotoxin Journal*, 4, 285–313.
- Hagler JR W. M., Towers N. R., Mirocha C. J., Eppley R. M., Bryden W. L., 2001.** Zearalenone: mycotoxin or mycoestrogen?, pp 321–331. In: *Fusarium*, eds.: Summerell B.A., Leslie J.F., Backhouse D., Bryden, W.L., Burgess L.W., American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN, USA.
- He J., Zhou T., Young J. C., Boland G. J., Scott P. M., 2010.** Chemical and biological transformations for detoxification of trichothecene mycotoxins in human and animal food chains: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21, 67–76.
- Herebian D., Zühlke S., Lamshöft M., Spiteller M., 2009.** Multi-mycotoxin analysis in complex biological matrices using LC-ESI/MS: experimental study using triple stage quadrupole and LTQ-Orbitrap. *Journal of Separation Science*, 32, 939–948.
- Herzallah S. M., 2009.** Determination of aflatoxins in eggs, milk, meat and meat products using HPLC fluorescent and UV detectors. *Food Chemistry*, 114, 1141–1146.
- Huwig A., Freimund S., Käppeli O., Dutler H., 2001.** Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicology Letters*, 122, 179–188.

- IARC, 1993.** Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Geneva. 1993, 56.
- IARC, 2002.** Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene. IARC In IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 82, 301–366. Lyon, France: WHO.
- JECFA, 2000.** Safety evaluation of certain food additives and contaminants., WHO food additive series 44, zearalenone, 393–482, World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- JECFA, 2001.** Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Fifty-sixth Meeting, Geneva, Switzerland, 6–15 February.
- Jonsyn-Ellis F. E., 2000.** Seasonal variation in exposure frequency and concentration levels of aflatoxins and ochratoxins in urine samples of boys and girls. *Mycopathologia*, 152, 35.
- Jouany J. P., 2007.** Methods for preventing decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. *Animal Feed Sciences and Technology*, 137, 342–362.
- 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.
- Krska R., Welzig E., Boudra H., 2007.** Analysis of Fusarium toxins in feed. *Animal Feed Science and Technology*, 137, 241–264.
- Kuiper-Goodman T., 2004.** Risk assessment and risk management of mycotoxins in food. In: Mogan, N., Olsen, M. (Eds.), *Mycotoxins in Food, Detection and Control*. CRC Press, New York; Wood head Publishing Limited, Cambridge, England, 3–31 (Chapter 1).
- Lacey J., 1991.** Natural occurrence of mycotoxins in growing and conserved forage crops. In: J.E. Smith and R.E. Henderson (Eds.). *Mycotoxins and Animal Foods*. CRC Press, Boca Raton, Fla., 363–397.
- Lee Y. J., Hagler W. M., 2001.** Aflatoxin and cyclopiazonic acid production by *Aspergillus flavus* isolated from contaminated maize. *Journal of Food Science*, 56, 871–872.
- Lerda D., Bistoni M. B., Peralta N., Ychari S., Vasquez M., Bosio G., 2005.** Fumonisin in foods from Córdoba (Argentina), presence and genotoxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 43, 691–698.
- Liu G., Qian Y., Zhang P., Dong W., Qi Y., Guo H., 1992.** Etiological role of *Alternaria alternata* in human esophageal cancer. *Chinese Medical Journal*, 105, 394–400.
- Logrieco A., Moretti A., Solfrizzo M., 2009.** *Alternaria* toxins and plant diseases: an overview of origin, occurrence and risks. *World Mycotoxin Journal*, 2, 129–140.
- Mahfoud R., Maresca M., Garmy N., Fantini J., 2002.** The mycotoxin patulin alters the barrier function of the intestinal epithelium, mechanism of action of the toxin and protective effects of glutathione. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 181, 209–218.
- Mantle P., Faucet-Marquis V., Manderville R., Sciqualli B., Pfohl-Leskowicz A., 2010.** Structures of covalent adducts between DNA and ochratoxin A: a new factor in debate about genotoxicity and human risk assessment. *Chemical Research in Toxicology*, 23, 89–98.
- Maragos C. M., 2010.** Zearalenone occurrence and human exposure. *World Mycotoxin Journal*, 3, 369–383.
- Maxwell S. M., Apeagyei F., de Vries H. R., Mwanmut D. D., Hendrickse R. G., 1998.** Aflatoxins in breast milk, neonatal cord blood and sera of pregnant women. *Journal of Toxicology and Toxin Reviews*, 8, 19–29.
- McKinley E. R., Carlton W. W., 1991.** In P. Sharma, D. K. Salunkhe (Eds.), *Mycotoxins and phytoalexins, patulin*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press.
- Medianer T., 1997.** Breeding Wheat and Rye for Resistance to Fusarium Diseases. *Plant Breeding*, 116, 201–220.
- Meissonnier G. M., Laffitte J., Raymond I., Benoit E., Cosalter A. M., Pinton P., Bertin G., Oswald I. P., Galtier P., 2008.** Subclinical doses of T-2 toxin impair acquired immune response and liver cytochrome P450 in pigs. *Toxicology*, 247, 46–54.
- Milićević D., Nikšić M., Baltić T., Stefanović S., Janković S., 2009.** Prisustvo plesni i mikotoksina u hrani za ishranu svinja – značaj u proceni rizika. *Tehnologija mesa* 50, 5–6, 261–270.
- Milićević D., Grubić M., Radičević T., Sefanović S., Janković S., Vranić V., 2011.** Prisustvo rezidua ohratoksin A u tkivima svinja i živine. – značaj u analizi rizika. *Tehnologija mesa*, 52, 2, 268.
- Morgavi D. P., Riley R. T., 2007.** An historical overview of field disease outbreaks known or suspected to be caused by consumption of feeds contaminated with *Fusarium* toxins. *Animal Feed Sciences and Technology*, 137, 201–212.
- Moss M. O., 1996.** Mode of formation of ochratoxin A. *Food Additives and Contaminants Supplement*, 13, 5–9.
- Müller H. M., 1978.** Zearalenon-Ein östrogen wirksames Mycotoxin. *Übers Tierernähr* 6, 265–300.
- Mykkanen H., Zhu H., Salminen E., Juvonen R. O., Ling W., Ma J., Polychronaki N., Kemilainen H., Mykkanen O., Salminen S., El-Nezami H., 2005.** Fecal and urinary excretion of aflatoxin B1 metabolites (AFQ1, AFM1 and AFB-N7-guanine) in young Chinese males. *International Journal of Cancer*, 115, 879.
- Neal G. E., Eaton D. L., Judah D. J., Verma A., 1998.** Metabolism and toxicity of aflatoxins M1 and B1 in human-derived in vitro systems. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 151–152.
- Nedeljkovic-Trailovic J., Trailovic S., Dimitrijevic M., Ilic V., 2013.** Blood Serum Protein Status in Broilers Fed with Increasing Concentrations of Ochratoxin A. *Acta veterinaria-Beograd*, 63, 1, 77–88.
- Oliveira C. A., Rosmaninho J., Rosim R., 2006.** Aflatoxin M1 and cyclopiazonic acid in milk traded in São Paulo, Brazil. *Food Additives and Contaminants*, 23, 196–201.
- Ostry V., 2008.** *Alternaria* mycotoxins: on overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotoxin Journal*, 1, 175–188.
- Palumbo J. D., O’Keeffe T. L., Mahoney N. E., 2007.** Inhibition of ochratoxin A production and growth of *Aspergillus* species by phenolic antioxidant compounds. *Mycopathologia*, 164, 241–248.
- Park D. L., Price W. D., 2001.** Reduction of aflatoxin hazards using ammoniation. *Review of Environmental Contamination and Toxicology*, 171, 139–175.
- Pasteiner S., 1998.** *Mycotoxins in animal husbandry*. Wien: Biomin Gesunde Tierernahrung Int. GesmbH.
- Pestka J. J., 2010.** Deoxynivalenol: mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance. *Archives of Toxicology*, 84, 663–679.

- Peterson S. W., Ito Y., Horn B. W., Goto T., 2001.** Aspergillus bombycis, a new aflatoxigenic species and genetic variation in its sibling species, A. nomius. *Mycologia*, 93, 689–703.
- Petterson H., 2004.** Controlling mycotoxins in animal feeds. In: Magan, N., Olsen, M. (Eds.), *Mycotoxins in Food*. Woodhead Publishing, Cambridge, 262–304.
- Pfohl-Leskowicz A., Manderville R. A., 2007.** Ochratoxin A: an overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51, 61–99.
- Phillips R. D., Hayes A. W., Berndt W. O., 1980.** High-performance liquid chromatographic analysis of the mycotoxin citrinin and its application to biological fluids. *Journal of Chromatography*, 190–419.
- Phillips T. D., Lemke S. L., Grant P. G., 2002.** Characterization of clay-based enterosorbents for the prevention of aflatoxicosis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 504, 157–171.
- RASFF, 2011.** Annual reports 2011. European Commission.
- Richard J. L., 2007.** Some major mycotoxins and their mycotoxicoses e an overview. *International Journal of Food Microbiology* 119, 3–10.
- Riley R. T., 1998.** Mechanistic interactions of mycotoxins: Theoretical consideration. In: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. Ed. By K.K. Sinha & D. Bhatnagar Marcel Dekker, Inc. New York, Basel, Honh Kong, 227–253.
- Rocha O., Ansari K., Doohan F. M., 2005.** Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: A review. *Food Additives and Contaminants* 22, 369–378.
- Rubert J., Sebastià N., Soriano J. M., Soler C., Mañes J., 2011.** One-year monitoring of aflatoxins and ochratoxin A in tiger-nuts and their beverages. *Food Chemistry* 127, 2, 822–826.
- SCF, 2002.** Opinion of the Scientific Committee on Food on *Fusarium* toxins. Part 6, Group evaluation of T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol and deoxynivalenol. Scientific Committee on Food SCF/CS/CNTM/MYC/27 Final. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out123_en.pdf Accessed 7th February 2013.
- SCF, 2003.** Updated opinion of the Scientific Committee on Food on Fumonisin B1, B2 and B3. Scientific Committee on Food SCF/CS/CNTM/MYC/28 Final European Food Safety Authority (EFSA), 2004b. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to zearalenone as undesirable substance in animal feed. *The EFSA Journal*, 43, 1–41.
- Schatzmayr G., Zehner F., Taubel M., Schatzmayr D., Klimitsch A., Loibner A. P., Binder E. M., 2006.** Microbiologicals for deactivating mycotoxins. *Molecular Nutrition Food Research*, 50, 543–551.
- Schwartz G. G., 2002.** Hypothesis: Does ochratoxin A cause testicular cancer? *Cancer cause and Control* 19, 91.
- Scudamore K. A., 2005.** Principles and Applications of Mycotoxin Analysis. *The Mycotoxin Blue Book*, Edited by Duarte Diaz, 157–185, Nottingham University Press.
- 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.
- Seeling K., Dänicke S., Valenta H., van Egmond H. P., Schothorst R. C., Jekel A. A., 2006.** Effects of *Fusarium* toxin-contaminated wheat and feed intake level on the bio-transformation and carry-over of deoxynivalenol in dairy cows. *Food Additives and Contaminants*, 23, 1008–1020.
- Shapira R., Paster N., 2004.** Control of mycotoxins in storage and techniques for their decontamination. Woodhead Publishing Ltd. England, ISBN 1 855737337, 190–223.
- Shephard G. S., Marasas W. F., Burger H. M., Somdya N. I., Rheeder J. P., Van der Westhuizen L., Gatyeni P., Van Schalkwyk D. J., 2007.** Exposure assessment for fumonisins in the former Transkei region of South Africa. *Food Additives and Contaminants*, 24, 1196.
- Shephard G. S., 2008.** Impact of mycotoxins on human health in developing countries. *Food Additives and Contaminants*, 25, 146–151.
- Silva L. J., Pena A., Lino C. M., Fernández M. F., Mañes J., 2010.** Fumonisin determination in urine by LC-MS-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 396, 809–816.
- Singh N. D., Sharma A. K., Dwivedi P., Patil R. D., Kumar M., 2008.** Experimentally induced citrinin and endosulfan toxicity in pregnant Wistar rats: histopathological alterations in liver and kidneys of fetuses. *Journal of Applied Toxicology*, 28, 901–907.
- Sivakumar V., Thanissar J., Niranjali S., Devaraj H., 2001.** Lipid peroxidation as a possible secondary mechanism of sterigmatocystin toxicity. *Human & Experimental Toxicology*, 20, 8, 398–403.
- Službeni glasnik RS, br 78/10.** Pravilnik o opštim i posebnim uslovima higijene hrane za životinje.
- Službeni glasnik RS, br. 91/2009.** Pravilnik o utvrđivanju programa sistematskog praćenja rezidua farmakoloških, hormonskih i drugih štetnih materija kod životinja, proizvođa životinjskog porekla, hrane životinjskog porekla i hrane za životinje.
- Službeni glasnik RS, br. 25/2010 i br. 20/13.** Pravilnik o maksimalno dozvoljenim količinama ostataka sredstava za zaštitu bilja u hrani i hrani za životinje i o hrani i hrani za životinje za koju se utvrđuju maksimalno dozvoljene količine ostataka sredstava za zaštitu bilja.
- Soriano M. J., 2007.** *Micotoxinas en Alimentos* (1st ed.). España: Ediciones Díaz de Santos. (Chapter 12).
- Steyn P. S., Gelderbloom W. C. A., Shephard G. S., van Heerden F. R., 2009.** Mycotoxins with a special focus on aflatoxins, ochratoxins and fumonisins. In: Ballantyne, B., Marrs, T., Syversen, T. (Eds.), *General and Applied Toxicology*. third ed. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK, 3467–3527.
- Stroka J., Van Egmond H. P., 2006.** How to deal with measurement uncertainty in routine mycotoxin determination. In: Barug D, Bhatnagar D, Van Egmond HP, Van der Kamp JW, Van Osenbruggen WA, Visconti A (eds) *The mycotoxin factbook*. Food and feed topics. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, 295–310.
- Tournas V., 1994.** Heat-resistant fungi of importance to the food and beverage industry. *Critical Reviews in Microbiology*, 20, 243–263.
- Turner P. C., Rothwell J. A., White K., Gong Y. Y., Cade J. E., Wild C. P., 2008.** Urinary Deoxynivalenol is Correlated with cereal intake in individuals from the United Kingdom. *Environmental Health Perspectives*, 116, 21–25.
- Uraguchi K., Yamazaki M., 1978.** Toxicology, biochemistry and pathology of mycotoxins. Halsted Press, New York, USA.
- Valenta H., Dänicke S., 2005.** Study on the transmission of deoxynivalenol and deepoxy-deoxynivalenol into eggs of laying hens using a high-performance liquid chromatography-ultraviolet method with clean-up by immunoaffinity columns. *Molecular Nutrition and Food Research* 49, 779–785.

- Van der Merwe K. J., Steyn P. S., Fourie L., 1965.** Mycotoxins. II. The constitution of ochratoxins A, B, and C, metabolites of *Aspergillus ochraceus* Wilh. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 7083–7088.
- Van Egmond H. P., Schothorst R. C., Jonker M. A., 2007.** Regulations relating to mycotoxins in food Perspectives in a global and European context. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389, 147–157.
- Vardon P., McLaughlin C., Nardinelli C., 2003.** Potential economic costs of mycotoxins in the United States. In: Council for Agricultural Science and Technology (CAST) (Ed.), *Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems*. Task Force Report No. 139. CAST, Ames, IA.
- Varga J., Peteri Z., Tabori K., Teren J., Vagvolgyi C., 2005.** Degradation of ochratoxin A and other mycotoxins by *Rhizopus* isolates. *International Journal of Food Microbiology* 99, 321–328.
- Varga J., Kozakiewicz Z., 2006.** Ochratoxin A in grapes and grape-derived products. *Trends in Food Science and Technology*, 17, 72–81.
- Versilovskis A., De Saeger S., 2010.** Sterigmatocystin: occurrence in foodstuffs and analytical methods – an overview. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54, 136–147.
- Vrabcheva T., Usleber E., Dietrich R., Martlbauer E., 2000.** Co-occurrence of ochratoxin A and citrinin in cereals from Bulgarian villages with a history of Balkan endemic nephropathy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 2483–2488.
- Wei Y. H., Lu C. Y., Lin T. N., Wei R. D., 1985.** Effect of ochratoxin A on rat liver mitochondrial respiration and oxidative phosphorylation. *Toxicology*, 36, 119–130.
- Weiser J. M., Fink-Gremmels J., 1991.** Effects of verruculogen and fumitremorgen B on neurotransmitter release in vivo. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 87, 193–195.
- WHO, 1995.** 44th Report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives. Technical report series 859, 36.
- WHO, 2001.** Safety evaluation of certain mycotoxins in food. WHO Food Additive Series 47, Geneva.
- WHO, 2009.** Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food. *Environmental Health Criteria*, 240.
- Wild C. P., Gong Y. Y., 2010.** Mycotoxins and human disease: A largely ignored global health issue. *Carcinogenesis*, 31, 71–82.
- Williams J. H., Philips T. D., Jolly P. E., Stiles J. K., Jolly C. M., Aggarwal D., 2004.** Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80, 1106–1122.
- Wu F., 2004.** Mycotoxin risk assessment for the purpose of setting international regulatory standards. *Environmental Science & Technology*, 38, 4049–4055.
- Wu F., 2007.** Measuring the economic impacts of *Fusarium* toxins in animal feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 137, 363–374.
- Wu F., Munkvold G. P., 2008.** Mycotoxin in ethanol co-products: modelling economic impacts on the livestock industry and management strategies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 3900–3911.
- Wu H. C., Santella R., 2012.** The role of aflatoxins in hepatocellular carcinoma. *Hepatitis Monthly*, 12, 8–16.
- Wyatt D. R., 2005.** (Ed.), *The Mycotoxin Blue Book: Mycotoxin Interactions*, Nottingham University Press, Nottingham, 269–278.
- Yaling L., Xin X., Juan W., Lingxiao X., Yanling S., Zhigang Y., Xia Y., Junling W., Xianghong Z., 2012.** Sterigmatocystin alters the number of FoxP3⁺ regulatory T cells and plasmacytoid dendritic cells in BALB/c mice. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 6, 1920–1926.
- Yazar S., Omurtag G. Z., 2008.** Fumonizins, trichothecenes and zearalenone in cereals. *International Journal of Molecular Sciences* 9, 2062–2090.
- Young J. C., Honghui Zhu, Ting Zhou., 2006.** Degradation of trichothecene mycotoxins by aqueous ozone. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 3, 417–424.

Mycotoxins in food chain – risk assessment and importance for public health

Milićević Dragan, Nedeljković-Trailović Jelena, Mašić Zoran

S u m m a r y: Disease outbreaks due to the consumption of contaminated food and feedstuff are a recurring problem worldwide. The major factor contributing to contamination are microorganisms, especially fungi, which produce low-molecular-weight compounds as secondary metabolites, with confirmed toxic properties referred to as mycotoxins. Mycotoxins are toxic secondary metabolites produced by fungi that invade crops at the field level and may grow on foods during storage under favorable conditions. The toxigenic fungi of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternari* and *Claviceps* have genera are of the greatest consequence to food safety. Mycotoxins, of over 400 that are known, which have the most food safety, nutritive, ecologic and economic significance include the aflatoxins, ochratoxins, trichothecenes, zearalenone, fumonisins, tremorgenic mycotoxins and ergocalcoides. Some molds are capable of producing more than one mycotoxin and some mycotoxins are produced by more than one fungal species. Often more than one mycotoxin is found on a contaminated substrate. Factors influencing the presence of mycotoxins in foods or feeds include environmental conditions related to storage that can be controlled. Other extrinsic factors such as climate or intrinsic factors such as fungal strain specificity, strain variation, and instability of toxigenic properties are more difficult to control. Exposure to mycotoxins is mostly by ingestion, but also occurs by the dermal and inhalation routes. The diseases caused by exposure to mycotoxins are known as mycotoxicoses. Mycotoxins have various acute and chronic effects on humans and animals (especially monogastrics) depending on species and susceptibility of an animal within a species. Ruminants, however, are generally more resistant to the adverse effects of mycotoxins. This is because the rumen microbiota is capable of degrading mycotoxins. The economic impact of mycotoxins include loss of human and animal life, increased health care and veterinary care costs, reduced livestock production, disposal of contaminated foods and feeds, and investment in research and applications to reduce severity of the mycotoxin problem. This review is meant to be informative not only for health-conscious consumers but also for experts in the field to pave the way for future research to fill the existing gaps in our knowledge in regard to mycotoxins and food safety. In this review, the focus is on the occurrence of various types of mycotoxins in food and feed associated with risks to humans and livestock, as well as legislation put forth by various authorities. Brief descriptions on recent developments in mycotoxin detection methodology and on presently practiced detoxification methods are also included.

Key words: mycotoxins, food safety, risk assessment, public health.

Rad primljen: 18.11.2013.

Rad prihvaćen: 26.03.2014.