

UDK 53.083.18: 664.6/7:582.288  
ISSN 0352-9193

professional paper

## Onečišćenje žitarica, brašna i tjestenine slavonskobaranjskog područja plijesnima vrste *Aspergillus flavus* i aflatoksinom B<sub>1</sub>\*

### Contamination of Cereals, Flour and Pastry with Mould Species of *Aspergillus flavus* and Aflatoxin B<sub>1</sub> in the Region of Slavonia and Baranja

Marija Halt

Prehrambeno-tehnološki fakultet Sveučilišta u Osijeku, Osijek

Primljeno: 25. 11. 1993.

Prihvaćeno: 21. 4. 1994.

#### Sažetak

U radu su prikazani rezultati ispitivanja stupnja onečišćenja žitarica, brašna i tjestenine (548 uzoraka) plijesnima vrste *Aspergillus flavus*, poznatim producentom aflatoksina. Ta je vrsta nađena u 58 (od 465 analiziranih) uzoraka brašna i tjestenine. Prisutnost aflatoksina B<sub>1</sub>, masenog udjela od 2 do 10 ppb, dokazana je u 62 % uzoraka brašna onečišćenih s *A. flavus*. U samo 2 uzorka tjestenine, od 15 onečišćenih plijesnima vrste *A. flavus*, dokazan je maseni udjel od 2 ppb aflatoksina B<sub>1</sub>. Plijesan vrste *A. flavus* pronađen je u 32 (od 83 analizirana) uzorka kukuruza i ječma. U 27 uzoraka s dokazanom prisutnošću *A. flavus* utvrđen je i maseni udjel od 5 do 20 ppb aflatoksina B<sub>1</sub>.

#### Summary

The paper presents research results regarding contamination level of cereals, flour and pastry (548 samples) with mould species of *Aspergillus flavus*, the known aflatoxin producer. This species was found in 58 out of 465 analysed samples of flour and pastry. Presence of aflatoxin B<sub>1</sub> with a mass fraction of 2 to 10 ppb was detected in 62 % of flour samples contaminated by *A. flavus*. Presence of aflatoxin B<sub>1</sub> of 2 ppb was detected in just two out of 15 pastry samples which were contaminated by mould species of *A. flavus*. Mould species of *A. flavus* was detected in 32 out of 83 analysed samples of corn and barley. 27 samples, proved to contain *A. flavus*, contained also aflatoxin B<sub>1</sub> with a mass fraction of 5 to 20 ppb.

#### Uvod

Poznato je da plijesni mogu biti korisne u prehrani ljudi, sintezi nekih antibiotika i organskih kiselina, u zrenju nekih vrsta sireva i kobasica itd. Štetne su jer uzrokuju bolesti ljudi, životinja i biljaka.

Posljednja tri desetljeća (od 1961) u cijelom se svijetu velika pozornost posvećuje plijesnima koje stvaraju mikotoksine kao sekundarne metabolite. Otkriveno je preko 220 vrsta toksičnih plijesni, otprilike 300 različitih njihovih metabolita, od čega oko 60 pravih mikotoksina (1). Ispitana im je kemijska struktura i djelovanje na organizme pokusnih životinja. Dijele je na mikotoksine koji uzrokuju bolesti jetre, bubrega, živčanog sustava, mišića, kože, respiratornih organa, probavnog trakta, spolnih organa i drugo (2–4).

Mikotoksini se u organizam ljudi mogu unijeti pljesnivom hranom ili hranom životinjskog podrijetla, tj. od

životinja hranjenih pljesnivom hranom (5–7). Među poznatim mikotoksinima najtoksičniji su aflatoksini. Sintetiziraju ih plijesni vrste *Aspergillus flavus* Link ex Fries i *Aspergillus parasiticus* Speare, a i manji broj drugih plijesni (8–12). Letalne koncentracije tog mikotoksina, kako je poznato, uzrokuju smrt pokusnih životinja za 72 sata, a koncentracije manje od smrtonosnih – bolesti i rak jetre (13). Aflatoksini su pronađeni u kikirikiju, pšenici i ostalim žitaricama, riži, sjemenu lubenice i sezama, grašku, grahu, leći, kavi, orahu, mlijeku i proizvodima od mlijeka, mesu i mesnim prerađevinama, proizvodima od voća i povrća itd. (14–19). Biosinteza aflatoksina ovisi o soju, ali isto tako o raspoloživom materijalu i uvjetima rasta plijesni, osobito o udjelu vode, temperaturi i nekim drugim sastojcima, kao što su ioni Zn (20).

Budući da su aflatoksini štetni za zdravlje ljudi i životinja, potrebno je znati gdje se ti mikotoksini nalaze i

\* Rezultati rada priopćeni su na 2. savjetovanju značenja kemije u proizvodnji hrane i zaštiti čovjekove okoline, Osijek, 20–22. svibnja 1987, te pripremljeni za objavljivanje tijekom 1990. godine. Međutim, situacija u Hrvatskoj usporila je objavljivanje ovoga rada.

koliko ih ima. U ovom je radu praćena učestalost onečišćenja žitarica, brašna i tjestenine slavonsko-baranjskog područja plijesnima vrste *A. flavus* i aflatoksinom B<sub>1</sub>.

## Materijal i metode

Da bi se ustanovilo onečišćenje žitarica, brašna i tjestenine plijesnima vrste *Aspergillus flavus* i aflatoksinom B<sub>1</sub>, mikotoksikološkim metodama analizirano je 406 uzoraka brašna, 59 uzoraka tjestenine, 64 uzorka kukuruza i 19 uzoraka ječma. Uzorci brašna (iz skladišta mlinova u Belom Manastiru, Čačincima, Osijeku i Vinkovcima), tjestenine (iz Poduzeća za proizvodnju tjestenine) i uzorci kukuruza i ječma (iz skladišta Tvornice za proizvodnju stočne hrane–Darda) uzimani su od 30.3.1977. do 01.3.1986. najčešće svaki ili svaki drugi mjesec.

Broj plijesni određen je Kochovom metodom, na Czapekovu agaru (21). Određivanje izoliranih plijesni do rodova obavljeno je prema priručniku za identifikaciju i klasifikaciju zemljišnih plijesni (22), a za rod *Aspergillus* do vrsta prema Raperu i Fennelovoj (23).

Izolati plijesni vrste *Aspergillus flavus* određeni su prema proizvodnji aflatoksina B<sub>1</sub> metodama De Vogela i suradnika (24). Postupak biosinteze proveden je sojevima *A. flavus* nacijepljenim u 50 cm<sup>3</sup> bujona s 20 % saharoze i 2 % ekstrakta kvasca. Nakon inkubacije od 10 do 14 dana na 28 °C, aflatoksin je ekstrahiran sa 75 cm<sup>3</sup> kloroforma iz filtrata kulture te koncentriran u vakuumskom uparivaču pri 40 °C (25). Ostatak je otopljen u 5 cm<sup>3</sup> kloroforma. Kloroformski ekstrakt identificiran je metodom tankoslojne kromatografije (TLC) na pločama silikagel H (tip 60), a kao sustav razvijaača uporabljena je otopina kloroforma i acetona u volumnom omjeru 85 : 15. Prisutnost aflatoksina B<sub>1</sub> ustanovljena je vizualno pod djelovanjem ultraljubičaste svjetlosti (26) na osnovi specifične fluorescencije i R<sub>F</sub>-vrijednosti, koje su uspoređene sa standardom aflatoksina B<sub>1</sub> (Southern Utilization Research and Development Laboratories, New Orleans, Lab.).

Za određivanje koncentracije aflatoksina uzorci od 25 g (onečišćeni s *A. flavus*) macerirani su kloroformom. Nakon filtriranja i uparavanja filtrata, dobiveni je ekstrakt primijenjen za određivanje koncentracije aflatoksina. Maseni udio aflatoksina u uzorcima određen je po metodi AOAC (27) vizualno pod djelovanjem ultraljubičaste svjetlosti, na osnovi intenziteta fluorescencije, a prema formuli:

$$w(\text{aflatoksin})/10^{-6} = \frac{V_s \cdot \gamma_s \cdot V_d}{V_x \cdot m}$$

- $V_s$  = volumen standarda aflatoksina (u mL),  
volume of aflatoxin standard (mL),
- $\gamma_s$  = koncentracija standarda aflatoksina (μg/mL),  
mass concentration of aflatoxin standard (μg/mL),
- $V_d$  = konačni volumen uzorka (mL),  
final volume of sample (mL),
- $V_x$  = volumen uzoraka koji daje fluorescenciju istog intenziteta kao i  $V_s$  (u mL),  
sample volume spotted giving fluorescent intensity equal to  $V_s$  (mL)
- $m$  = masa uzorka (g).  
mass sample (g).

Intenzitet fluorescencije aflatoksina izravno je proporcionalan koncentraciji aflatoksina. Maseni udio aflatoksina u uzorcima određen je usporedbom sa standardom.

## Rezultati i rasprava

Analizirajući uzorke brašna, tjestenine, kukuruza i ječma, dokazano je veliko mnoštvo rodova i vrsta plijesni. Prevladavale su vrste iz rodova: *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium* i *Trichoderma*. U ovom je radu posebna pozornost posvećena onečišćenju analiziranih uzoraka plijesnima vrste *Aspergillus flavus*. Rezultati ovih ispitivanja prikazani su u tablici 1.

Ukupno je obrađeno 465 uzoraka brašna i tjestenine (tablica 1), a u 58 uzoraka (12,5 %) dokazana je prisutnost plijesni vrste *Aspergillus flavus*. U literaturi postoje različiti podaci o postotku aflatoksikogenih sojeva. Rezultati naših analiza pokazuju da je svih 58 izolata proizvelo aflatoksin B<sub>1</sub> u optimalnim uvjetima. Slične su rezultate dobili i Hesseltine i sur. (28) koji su ispitujući 67 izolata *A. flavus* dokazali da svi imaju sposobnost proizvodnje aflatoksina, dok su Šutić i Pantović (29) ustanovile da od 5 izolata *A. flavus*, izdvojenih iz kikirikija, čak 4 sintetiziraju aflatoksin B<sub>1</sub>. Analizirajući 1626 izolata *A. flavus* izdvojenih iz kikirikija podrijetlom iz Izraela, Joffe (30) ustanovio je da 90 % izolata stvara aflatoksin. Prema rezultatima istraživanja Cvetnić i Pepeljnjaka (31) od 56 ispitanih sojeva *A. flavus*, izdvojenih sa suhomesnatih proizvoda, 5 sojeva (8,9 %) tvorilo je aflatoksine. Ispitujući 593 izolata *A. flavus*, podrijetlom sa zrna pšenice i gorušice, Ranjan i suradnici (32) ustanovili su da je 39 % proizvodilo aflatoksin B<sub>1</sub>. Prema rezultatima Ahmada (33) 70 % izolata *A. flavus*, podrijetlom sa crnoga graha (*Vigna mungo*) bilo je toksikogeno.

Ne začuđuju različiti rezultati jer su izolati *A. flavus* potjecali od različitih uzoraka, podrijetlom s različitih tala i klimatskih područja. Poznato je da biosintezu aflatoksina B<sub>1</sub> pokazuju samo neki sojevi *A. flavus*, i to kada se nađu u odgovarajućim uvjetima. U ovom je radu uočena veća koncentracija *A. flavus* u gotovoj tjestenini nego u brašnu. Naime, od 59 ispitanih uzoraka tjestenine 15 je bilo pozitivno (25,4 %). Istodobno, od 406 analiziranih uzoraka brašna, u 43 uzorka ustanovljene su plijesni vrste *A. flavus* (10,6 %). Onečišćenje ovom plijesni nastalo je vjerojatno pri procesu sušenja i odležavanja tjestenine, a manje izravno iz brašna. To potvrđuju i rezultati prijašnjih istraživanja autora (34) kada je analizom briseva i vlažne tjestenine ustanovljeno značajno onečišćenje plijesnima, koje potječu s radnih površina sušare. U uzorcima tjestenine (onečišćenim plijesnima vrste *A. flavus* u sušarama) nije dokazana prisutnost aflatoksina B<sub>1</sub>, jer nije bilo vremena da se on sintetizira.

Prisutnost aflatoksina B<sub>1</sub> masenog udjela od 2 do 10 ppb (tablica 1) dokazana je u 62,8 % uzoraka brašna onečišćenih s *A. flavus*. Prema »Pravilniku o količinama pesticida i drugih otrovnih tvari, hormona, antibiotika i mikotoksina koji se mogu nalaziti u živežnim namirnicama« (35) dopuštena je gornja granica 3 ppb, a kako prema odredbama FAO i WHO (36) udjel aflatoksina B<sub>1</sub> ne bi smio prelaziti 30 ppb, ispitivani uzorci brašna zadovoljavaju te standarde.

Tablica I. Intenzitet onečišćenja proizvoda plijesnima vrste *Aspergillus flavus* i aflatoksinom B<sub>1</sub>  
 Table 1. Level of product contamination with mould species *Aspergillus flavus* and aflatoxin B<sub>1</sub>

Uzorak /Sample/	A		B		C		D
	broj /number/	broj /number/	X/%	broj /number/	X/%	w/ppb	
Brašno /Flour/	406	43	10,6	27	62,8	2–10	
Tjestenina /Pastry/	59	15	25,4	2	13,3	2	
Kukuruz /Corn/	64	29	45,3	24	82,8	5–20	
Ječam /Barley/	19	3	15,8	3	100,0	5–10	
Ukupno /Total/	548	90	16,4	56	62,2	2–20	

A–broj analiziranih uzoraka

/number of analyzed samples/

B–uzorci s *A. flavus*

/samples with *A. flavus*/

C–prisutnost aflatoksina B<sub>1</sub>  
u uzorcima s *A. flavus*

/presence of aflatoxin B<sub>1</sub> in samples with *A. flavus*/

D–maseni udjel aflatoksina

/mass fraction of aflatoxin B<sub>1</sub> (ppb)/

Tjestenina je manje od brašna onečišćena aflatoksinom jer je njegova prisutnost dokazana samo u 2 uzorka od 15 onečišćenih s *A. flavus*. Maseni udjel aflatoksina B<sub>1</sub> iznosio je 2 ppb, što se slaže s podacima prijašnjih istraživanja (37). Takav maseni udjel aflatoksina zadovoljava navedene standarde FAO i WHO. Aflatoksini se raznim proizvodima od brašna (kruh, pecivo, tjestenina, konditorski proizvodi, kolači i dr.) mogu unijeti u ljudski organizam.

Toplinskom obradbom tjestenine, prije potrošnje, neće se razgraditi aflatoxin jer je izrazito otporan na temperaturu. To potvrđuju radovi mnogih autora (38–40). Poznato je da se aflatoxin nakuplja u jetri. Djelovanjem enzima može prijeći u aktivan oblik te ubrzati rak jetre, što je dokazano na pokusnim životinjama.

Plijesni vrste *A. flavus* dokazane su i u 32 (od 83 analizirana) uzorka kukuruza i ječma, što iznosi 38,6 % (tablica 1). Svi izolati stvaraju aflatoxin B<sub>1</sub> u optimalnim uvjetima. U 27 uzoraka kukuruza i ječma, onečišćenih plijesnima vrste *A. flavus*, utvrđen je maseni udjel od 5 do 20 ppb aflatoksina B<sub>1</sub>. Ti su maseni udjeli ispod granice od 50 ppb, koliko je kao gornja granica određeno »Pravilnikom o najvećim količinama štetnih tvari i sastojaka u stočnoj hrani« (41). Za razliku od vlastitih istraživanja Purwoko i suradnici (42), ispitujući hranu za živad, utvrdili su njezino značajno onečišćenje aflatoksinima. U 91 % uzoraka kukuruza (od 34 analizirana) maseni udjel aflatoksina (B<sub>1</sub> + B<sub>2</sub> + G<sub>1</sub> + G<sub>2</sub>) bio je od 22 do 6171 ppb. Aflatoxin B<sub>1</sub> ustanovljen je i u mekinjama od riže (od 36 do 71 ppb) dok u uzorcima sojinog brašna i usitnjene riže aflatoksini nisu pronađeni. Uzorci su podrijetlom iz Indonezije (tropske zemlje koja ima klimatske uvjete što omogućavaju rast plijesni i proizvodnju toksina). Istraživanja Banerjee i Shetty pokazuju značajno onečišćenje hrane za perad plijesnima, osobito vrstama roda *Aspergillus* (43). Prevladava vrsta *A. flavus*. U uzorcima hrane (podrijetlom iz Indije) utvrđen je aflatoxin B<sub>1</sub>.

Pri ishrani stoke aflatoxin iz hraniva prelazi u mlijeko. Budući da je otporan na temperaturu, može se naći u svim proizvodima od mlijeka (44–46).

U našim ekološkim uvjetima može doći do onečišćenja uskladištenih žitarica i njihovih preradevina plijesnima producentima aflatoksina što pokazuju podaci izneseni u ovom radu i u radovima Pepeljnjaka i suradnika (47,48).

Sama prisutnost plijesni ne znači da je uskladišteni materijal onečišćen mikotoksinima. Određene plijesni, producenti mikotoksina, mogu biti prisutne, a da nema mikotoksina (49,50). Naime, poznato je da do sinteze mikotoksina dolazi tek kada se plijesni nađu u odgovarajućim uvjetima. Utjecaj ovih činitelja, na proizvodnju toksina, obrađen je u velikom broju radova. Tako na primjer, Tung i Ling (51) drže da je za proizvodnju aflatoksina najpovoljnija relativna vlaga 99 %, iako se on sintetizira i pri 83 % vlage. Rabie i Smalley (52) navode da je optimalna temperatura za rast plijesni *A. flavus* i biosintezu toksina od 18 do 24 °C. Diener i Davis (53) dobili su maksimalnu količinu toksina nakon 15 dana uzgoja plijesni na 20 °C ili 11 dana na 30 °C. Drže da je za proizvodnju aflatoksina potrebna vlaga zrna (kikirikija) iznad 10 %. Jarvis (54) ustanovio je da do biosinteze aflatoksina neće doći pri temperaturi ispod 13 °C i iznad 42 °C. Prema navodima Muntañole–Cvetković (4) da bi se proizveli aflatoksini, potrebne su plijesni genetski sposobne da ih sintetiziraju, relativna vlaga sredine od 85 %, maseni udjel vode u podlozi od 30 %, temperatura od 25 °C i pogodna podloga. Istraživanja Reissa (20) pokazuju da je do proizvodnje aflatoksina u hrani za perad, onečišćenju s *A. flavus* i *A. parasiticus*, došlo pri relativnoj vlazi iznad 14 % i temperaturi od 25 do 45 °C, uz odgovarajući maseni udjel iona Zn.

Dakle, pravilnim uskladištenjem, pri niskim temperaturama, relativnoj vlažnosti zraka, neznatnom stupnju vlage uskladištenog materijala, može se, donekle, spriječiti sinteza aflatoksina i njegovo nakupljanje i pored pri-



sutnosti plijesni producenata. Istraživanja Durakovića i suradnika (55,56) pokazala su da se dodatkom diklorvosa (organo-fosforni insekticid) djelomično može inhibirati rast plijesni *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 uz istodobnu inhibiciju sinteze aflatoksina B<sub>1</sub>, G<sub>1</sub> i zearalenona (F-2 toksina). Dobiveni rezultati pokazuju mogućnost uspješne primjene diklorvosa radi sprečavanja rasta toksikogenih plijesni i sinteze toksina, što je svakako ohrabrujuće.

Skladišta iz kojih su uzimani uzorci za ova istraživanja nisu imala odgovarajuće uređaje za mjerenje temperature žita. Pretpostavlja se da je temperatura žita u ovim objektima u zimskom razdoblju bila od 0 do 2,5 °C, a u proljeće od 4 do 7 °C. Poslije, dolaskom toplijih dana, žito se postupno zagrijavalo (temperature žita mogle su iznositi i do 20 ili 24 °C). Prema raspoloživim podacima, vlaga uskladištenog žita bila je od 9,3 do 13,4 %. Dakle, do razvoja plijesni i biosinteze aflatoksina moglo je doći u ljetnom razdoblju kada su temperature bile visoke, ako je vlaga zrna bila iznad 10 %. U analiziranom brašnu bilo je 13,1–16,8 % vlage. Stoga je brašno, uz visoku temperaturu i relativnu vlagu zraka u skladištu, idealna podloga za razvoj plijesni i biosintezu aflatoksina. Analizirana tjestenina nije bila skladištena. Uzorci su uzimani izravno iz proizvodnje pa nije bilo vremena da dođe do razvoja plijesni i sinteze aflatoksina. Aflatoxin B<sub>1</sub> koji je pronađen u uzorcima tjestenine vjerojatno potječe iz brašna. Primarno je zapravo onemogućiti onečišćenje namirnica i hraniva mikotoksikogenim vrstama plijesni na farmi, u skladištu, u trgovini i u kućanstvu. Zaštita se namirnica i hraniva od onečišćenja mikotoksinima mora provoditi tijekom čitava lanca prehrane, od početka proizvodnje pa sve do hladionika i stola potrošača (5).

## Zaključak

Plijesan vrste *Aspergillus flavus* dokazana je u 58 (od 465 analiziranih) uzoraka brašna i tjestenine, tj. 12,8 %.

Prisutnost aflatoksina B<sub>1</sub> (od 2 do 10 ppb) dokazana je u 62,8 % uzoraka brašna onečišćenih s *A. flavus*. U samo 2 uzorka tjestenine (od 15 s *A. flavus*) dokazan je aflatoxin B<sub>1</sub> u masenom udjelu od 2 ppb.

Nadalje, plijesan vrste *A. flavus* pronađen je u 32, od 83 analizirana uzoraka kukuruza i ječma, a u 27 ovih uzoraka ustanovljen je i aflatoxin B<sub>1</sub> u masenom udjelu od 5 do 20 ppb.

U ovom je radu dokazano da svi uzorci onečišćeni s *A. flavus* nisu sadržavali aflatoxin B<sub>1</sub> pa je on ustanovljen samo u 62,2 % ovih uzoraka. Znači, uvjeti proizvodnje i skladištenja proizvoda odnosno hraniva nisu bili u svim slučajevima povoljni za razvoj plijesni i biosinteze aflatoksina B<sub>1</sub>.

## Extended Abstract

It is known that under favourable conditions certain moulds may synthesize oral and toxic metabolites—mycotoxins. Aflatoxins, belonging to a group of known mycotoxins, are highly toxic (specially aflatoxin B<sub>1</sub>) and are synthesized by mould species of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*, as well as by a smaller number of other mould species. Since aflatoxins are harmful to hu-

man and animal health, it is inevitable to locate these mycotoxins and determine their amount and producers.

This paper deals with monitoring the frequency of contamination in cereals, flour and pastry in the region of Slavonia and Baranja with the mould species *A. flavus*, the best known aflatoxin producer, and with aflatoxin B<sub>1</sub>. Our aim was to make mycological analysis of the following samples: flour (406 samples), pastry (59 samples), corn (64 samples) and barley (19 samples). Presence and contamination of aflatoxin B<sub>1</sub> was detected while the TLC method was applied on samples contaminated by *A. flavus*.

The results in Table 1 show the presence of *A. flavus* which was determined in 58 out of 465 analysed samples of flour and pastry and it amounted to 12.8 %. Presence of aflatoxin B<sub>1</sub> with a mass fraction of 2 to 10 ppb was detected in 62.8 % of flour samples contaminated by *A. flavus*. Presence of 2 ppb aflatoxin B<sub>1</sub> was detected just in two out of 15 pastry samples contaminated by mould species of *A. flavus*. Furthermore, mould species of *A. flavus* was found in 32 out of 83 analysed samples of corn and barley. 27 samples, proved to contain *A. flavus*, contained also aflatoxin B<sub>1</sub> with a mass fraction of 5 to 20 ppb.

## Literatura

1. N. Klemenc, P. Vospemnik, J. Žust, A. Vengust, V. Patevšek, *Vet. glasnik*, 1 (1976)45.
2. I.F.H. Purchase: *Mycotoxins*, I.F.H. Purchase (Ed), Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York (1974)1-28.
3. M. Šutić, *Tehnologija voća i povrća*, 11 (1976)91.
4. M. Muntañola-Cvetković: *Opšta mikologija*, NIRO Književne novine, Beograd (1987)257-269.
5. S. Duraković, J. Galić, P. Pajnović, *Hrana Ishrana*, 30 (1989)71.
6. S. Duraković: *Prehrambena mikrobiologija*, Medicinska naklada Zagreb (1991)82-83.
7. M. Šutić, N. Svilar, D. Ivanović, N. Tosman, E. Oljačić, Akademija nauka i umjetnosti BiH, Posebna izd. knjiga LXXXIX, Od. medicinskih nauka, knjiga 14, Simpozijum o mikotoksinima, Sarajevo (1989)109.
8. R. Allcroft, R.B.A. Carangaham, K. Sargeant, J. O'Kelly, *Vet. Recor.* 73 (1961)259.
9. R.B.A. Carnagham, R.D. Hartley, J. O'Kelly, *Nature (London)*, 200 (1963)4911.
10. R.C. Codner, K. Sargeant, R. Yeo, *Biotechnol. Bioeng.* 5 (1963)185.
11. M.N. Kulik, *Holaday, Mycopathol. Mycol. Appl.* 30 (1966)137.
12. M. Šutić, A. Banina, *Zemljište i biljka*, 127 (1978)265.
13. K. Sargeant, J. O'Kelly, R.B.A. Carangaham, R. Allcroft, *Vet. Recor.* 73 (1961)1219.
14. M. Šutić, M. Stojanović, *Hrana Ishrana*, 14 (1973)84.
15. W. Walbeek, *Fungal Toxins in Foods*. Reprinted from Canada Institute of Food Science and Technology Journal, 6 (1973)96.
16. S. Mužić, Č. Bogdanović, S. Pepeljnjak, M. Balzer, *Krmiva*, 19 (1977).
17. S. Pepeljnjak, J. Balzer, Akademija nauka i umjetnosti BiH, Posebna izdanja, knjiga LX, Odjeljenje medicinskih nauka, Simpozijum o mikotoksinima (1982)75.
18. M. Halt, *Znanost i praksa u poljoprivredi i prehrambenoj tehnologiji*, 14 (1984)490.
19. Z.H. Kheiralla, N.I. Hassanin, H. Amra, *Int. biodeterior. biodegradation*, 30 (1992)17.
20. J. Reiss: *Bildung von Mykotoxinen durch Schimmelpilze*. In Schimmelpilze: Lebensweisen Nutzen Schaden Bekämpfung, Berlin: Springer-Verlag (1986)98.

21. Pravilnik o metodama obavljanja mikrobioloških analiza i superanaliza živežnih namirnica (*Službeni list* 25/1980, str.857) a u skladu sa Zakonom o zdravstvenoj ispravnosti i zdravstvenom nadzoru nad namirnicama i predmetima opće upotrebe (*Narodne novine* 60/1992).
22. J.C. Gilman: *A Manual of Soil Fungi*, The Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA (1959)13–286.
23. K.B. Raper i D.I. Fenell: *The Genus Aspergillus*, Williams Wilkins (Ed.) Baltimore (1965) p.686.
24. P.De Vogel, R. Van Rhee, B. Koelensmid, *J. Appl. Bacteriol.* 28 (1965)213.
25. E.L. Strzelecki, H.S. Lillard, J.C. Ayers, *Appl. Microbiol.* 18 (1969)938.
26. M. Šutić, J.C. Ayres, P.E. Koehler, *Applied Microbiology*, 23 (1972)656.
27. Official Methods of Analysis, 12 th Ed. AOAC, Washington 1975 D.C. Chapt 26 Revised 1980.
28. C.W. Hesseltine, W.G. Sorenson, M. Smith, *Mycologia*, 62 (1970)123.
29. M. Šutić, D. Pantović, Knjiga sinopsisa, III. kongres mikrobiologa u Jugoslaviji, Bled (1976)688.
30. A.Z. Joffe, *Nature* (1969)221.
31. Z. Cvetnić, S. Pepeljnjak, *Veter. arhiv*, 56 (1986) 75
32. K.S. Ranjan, S.S. Sahay, A.K. Sinha, *J. Stored. Prod. Res.*28 (1992)221.
33. S.K. Ahmad, *J. Stored. Prod. Res.*29 (1993)33.
34. M. Todorović, M. Halt, J. Jukić, *Znanost i praksa u poljoprivredi i prehran. tehnologiji*, 17 (1987)502.
35. Pravilnik o količinama pesticida i drugih otrovnih tvari, hormona, antibiotika i mikotoksina koji se mogu nalaziti u živežnim namirnicama, *Narodne novine*, 60 (1992)1355.
36. FAO/WHO/UNICEF Protein Advisory Group. 1969. PAG Recommendation on aflatoxin. In PAG statement NO 2, FAO/WHO/UNICEF PAG, United Nations, N. Y. 10017. USA.
37. M. Halt, M. Šutić, J. Jukić, *Hrana Ishrana*, 26 (1985)9.
38. H. Fisbach, A.D. Campbell, *J. Assoc. Offic. Agr. Chem.*48 (1965)28.
39. A.J. Feuill, *Trop. Sci.*8 (1966)61.
40. V. Haberle, J. Balenović, B. Briški, *Hrana Ishrana*,19 (1978)451.
41. Pravilnik o zabranjenim i najvećim dopuštenim količinama štetnih tvari i sastojaka u stočnoj hrani, *Narodne novine*,4 (1992)67.
42. H.M. Purwoko, B. Hald, J. Wolstrup, *Letters in Applied Microbiology*,12 (1991)212.
43. A. Banerjee, H.S. Shetty, *Letters in Applied Microbiology*,15 (1992)89.
44. L. Stoloff, M. Trucksess, N. Hardin, O.J. Francis, J.R. Hayes, C.E. Polan, T.C. Campbell, *J. Dairy Sci.*,58 (1975)1789.
45. H.P. Van Egmond, P.L. Schuller, E.E. Paulsch, III. *International IUPAC Symposium of Mycotoxins in Foodstuffs*, Paris (1976).
46. M. Šutić, D. Pantović, B. Kordić, S. Matić, O. Lješević, N. Svilara, Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine, posebna izdanja, knjiga LX, Simpozijum o mikotoksinima, Sarajevo (1982)63.
47. S. Pepeljnjak, S. Čuturić, S. Topolko, M. Munk, *Krmiva*,21 (1979)109.
48. S. Pepeljnjak, I. Balzer, Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine, posebna izdanja, knjiga LX, Odeljenje medicinskih nauka, Simpozijum o mikotoksinima, Sarajevo (1982)75.
49. T. Brodnik, N. Klemenc, P. Vospernik, J. Žust, *Krmiva*,19 (1977).
50. Z. Stojanović, M. Popović, *Krmiva*,19 (1977).
51. T.C. Tung, K.H. Ling, *J. Vitaminola*,14 (1968)48.
52. C.J. Rabie, E.B. Smalley, *Symp. Mycotoxins. Foodstuffs, Agrica Cited by Jarvis, B. 1971, J. Appl. Bact.* 34 (1965)199.
53. U.L. Diener, N.D. Davis, *J. Am. Oil. Chem. Soc.*47 (1970)347.
54. B. Jarvis, *J. Appl. Bacteriol.*34 (1971)199.
55. S. Duraković, I. Piljac, O. Pospišil, T. Bertić, B. Radić, Z. Duraković, F. Delaš, *Prehrambeno-tehnol. biotehnol. rev.* 25 (1987)29.
56. S. Duraković, Z. Duraković, F.V. Golem, Ž. Filipović-Kovačević, T. Bertić, B. Radić, Lj.M. Lalić, *Kem.Ind.*42 (1993)435.