

Received: 2015.10.26
Accepted: 2016.12.16
Published: 2017.05.05

Aflatoksyny – charakterystyka i wpływ na zdrowie człowieka*

Aflatoxins: characteristics and impact on human health

Anna Kowalska¹, Katarzyna Walkiewicz², Paweł Kozieł², Małgorzata Muc-Wiergoń²

¹ Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

² Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych, Wydział Zdrowia Publicznego w Bytomiu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach Specjalistyczny Szpital nr 1 w Bytomiu

Streszczenie

W środowisku naturalnym powszechnie występują grzyby pleśniowe, których produktem wtórnego metabolizmu są mykotoksyny. *Aspergillus flavus* oraz *A. parasiticus* są gatunkami grzyba pleśniowego odpowiedzialnego za wytwarzanie aflatoksyn, które mają kluczowe znaczenie w patogenezie chorób człowieka. Do najczęściej występujących aflatoksyn zalicza się formy B1, B2, G1, G2, M1 oraz M2. Spożywanie zanieczyszczonej żywności jest głównym źródłem narażenia na aflatoksyny, które negatywnie wpływają na zdrowie zarówno ludzi jak i zwierząt. Związki te mogą powodować ostre lub przewlekłe objawy toksyczne o charakterze teratogennym, mutagennym, kancerogennym, immunotoksycznym lub hepatotoksycznym.

W artykule przedstawiono aktualne wiadomości dotyczące jednej z pięciu najważniejszych grup mykotoksyn – aflatoksyn. Uwzględniono ich pochodzenie, budowę chemiczną, właściwości fizykochemiczne. Podsumowano ich negatywny wpływ na organizm człowieka oraz przeanalizowano dane dotyczące narażenia na aflatoksyny, zwłaszcza w produktach żywnościowych.

Słowa kluczowe: aflatoksyny • występowanie • wpływ na zdrowie

Summary

Some molds commonly occurring in the natural environment produce mycotoxins in the process of secondary metabolism. *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* are species of molds, which are responsible for the production of aflatoxins and are crucial in the pathogenesis of human diseases. *Aspergillus* species present in decaying plants, the soil and their spores are transferred via air currents and insects to crops and food storages. Aflatoxins B1, B2, G1, G2, M1 and M2 are the most common derivatives of aflatoxins. Ingestion of contaminated food is the main source of exposure to aflatoxins, which adversely affect the health of both humans and animals. The compounds can cause acute or chronic toxic effects of a teratogenic, mutagenic, carcinogenic, immunotoxic or hepatotoxic character. Molecular aflatoxins affect DNA mutations, postranslation peptides chains modification, proteins and nucleic acids methylation and the formation of free radicals.

Due to aflatoxins carcinogenic features and frequent occurrence in food and forages they are routinely examined in some groceries and agricultural products.

Keywords: aflatoxins • occurrence • effect on health

*Badania zostały sfinansowane z umowy nr KNW-2-Z37/D/6/N realizowanej przez autorkę.

Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1237128
DOI:	11.1111/1111.1111
Word count:	6082
Tables:	1
Figures:	3
References:	120

Adres autorki: mgr Anna Kowalska, Katedra i Oddział Kliniczny Chorób Wewnętrznych w Bytomiu, Wydział Zdrowia Publicznego, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Żeromskiego 7, 41-902 Bytom; tel.: +48-32-281-21-22, e-mail: rzepka.ania@interia.pl

WSTĘP

W środowisku naturalnym występują takie gatunki grzybów strzępkowych i drożdżopodobnych, które przez wydzielanie swoistych produktów wtórnego metabolizmu – mykotoksyn (termin „mykotoksyny” pochodzi od słów: greckiego *mycos* – grzyb oraz łacińskiego *toxicum* – trucizna), niekorzystnie wpływają na gospodarkę i zdrowie człowieka. Mykotoksyny to toksyczne substancje chemiczne powstające wskutek rozwoju grzybów strzępkowych, obniżają wartości odżywcze i organoleptyczne produktów spożywczych, rozwój i stymulowanie reakcji alergicznych i niektórych nowotworów [48].

AFLATOKSYNY - CHARAKTERYSTYKA

Aflatoksyny (aflatoxins – AFs) zostały wyodrębnione na podstawie swoistej budowy chemicznej i wynikających z niej określonych właściwości chemicznych. Obejmują 20 heterocyklicznych difurokumarynowych pochodnych wytwarzanych przez rodzaj *Aspergillus* [24,101], w tym takie gatunki jak: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus nomius*, *Aspergillus bombycis*, *Aspergillus pseudotamarii*, *Aspergillus ochraceoroseus*, *Aspergillus rambellii* oraz *Aspergillus anamorphs* i *Emericella venezuelensis* [52,57]. Większość z wymienionych gatunków występuje nielicznie, szczególne znaczenie dla człowieka mają dwa, często występujące: *Aspergillus flavus* (kropidlak żółty) oraz *Aspergillus parasiticus* [90].

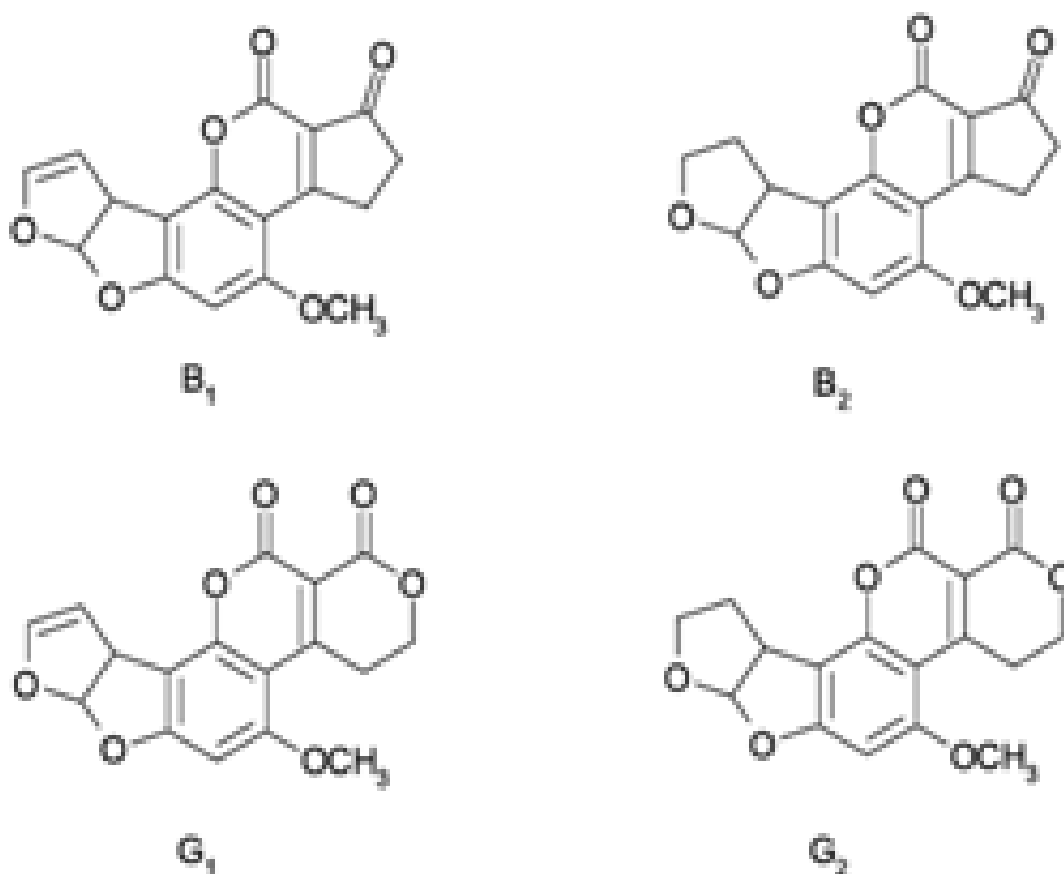
Rodzaj *Aspergillus* to głównie saprotrofy występujące w rozkładających się roślinach oraz w glebie, a ich zarodniki są roznoszone przez prądy powietrza lub owady (szkodniki upraw) do upraw rolnych oraz w magazynach. Nawet niewielkie uszkodzenie tkanki roślinnej umożliwia przenikanie strzępków grzyba do rozwijających się nasion, gdzie może nastąpić jego wzrost [89,90]. Szkodnikami umożliwiającymi przenoszenie się zarodników i grzybni są: omacnica prosowianka (*Ostrinia nubilalis*) [20] i słonecznica orężówka (*Heliothis armigera*) i inne [17]. Gatunki *Aspergillus* rozwijają się bardzo szybko, szczególnie w regionach tropikalnych i subtropikalnych, gdzie istnieją odpowiednie warunki wilgotności oraz wysoka temperatura [59,106]. Temperatury graniczne wzrostu grzybów aflatoksynotwórczych to: minimalna

12°C, optymalna 27°C oraz maksymalna 40-42°C [21]. Natomiast minimalna wartość aktywności wodnej (czyli aktywność wody, poniżej której ich wzrost zostaje zahamowany) wynosi 0,83 [78]. Globalizacja, w tym handel artykułami żywnościowymi dla ludzi i zwierząt sprzyja rozprzestrzenianiu się tych pleśni, zwłaszcza w produktach pochodzenia roślinnego. Aby zminimalizować ryzyko rozwoju tych grzybów, ziarno zbóż powinno być suche, wolne od owadów i uszkodzeń mechanicznych [89].

Do odkrycia aflatoksyn w 1960 r. przyczyniło się zatrucie ponad 100 000 młodych indyków na farmach w Anglii (tzw. choroba indycza X). Trzy lata później okazało się, że przyczyną śmierci indyków było spożycie paszy z dodatkiem śruty orzechów ziemnych, skażonych tymi związkami [4].

Wśród aflatoksyn najsilniejsze działanie biologiczne wykazują postaci B1 (AFB1), B2 (AFB2), G1 (AFG1), G2 (AFG2), M1 (AFM1), M2 (AFM2) [50,90]. Pierwsze cztery są wytwarzane przez grzyby, natomiast kolejne - to metabolity hydroksylowe aflatoksyn B1 i B2 obecne w mleku krów i produktach mlecznych [47]. Najbardziej toksyczna jest aflatoksyna B1 ze względu na obecność pierścienia laktonowego oraz dwóch pierścieni furanowych, w tym skrajnego z wiązaniem podwójnym w pozycji 8 i 9 (ryc.1), dzięki któremu cząsteczka aflatoksyny może się ściślej łączyć z cząsteczką białka lub DNA, zaburzając funkcjonowanie komórki [41,60]. Redukcja wiązania podwójnego w skrajnym pierścieniu furanowym znacznie zmniejsza toksyczność związku. Toksyczność zmniejsza się również po otwarciu pierścienia laktonowego, który jest podatny na hydrolizę (tworzącego z sąsiadującym pierścieniem benzenowym taki sam układ jak w kumarynie) z dekarboksylacją utworzonej grupy – COOH [70]. Skrajny pierścień z ugrupowaniem ketonowym aflatoksyny G1 zawiera dodatkowy atom tlenu, odróżniając ten związek od aflatoksyny B1. Po redukcji skrajnego pierścienia furanowego aflatoksyny G1 powstaje aflatoksyna G2 [17].

Aflatoksyny są słabo rozpuszczalne w wodzie i etanolu, dobrze rozpuszczalne w metanolu i chloroformie. W nadfiolecie fluoryzują na niebiesko (aflatoksyny B) lub



Ryc. 1. Struktura chemiczna aflatoksyn B₁,B₂,G₁,G₂

zielono (aflatoksyny G) [71,95]. Nie ulegają zniszczeniu pod wpływem wysokiej temperatury (aż do 270°C), ale rozkładają się pod wpływem promieni ultrafioletowych oraz światła widzialnego [103].

Aflatoksyna B₁ jest metabolizowana, głównie w wątrobie za pomocą cytochromu P450, w reakcjach epoksydacji, hydroksylacji, demetylacji oraz hydratacji do AFB₁-8,9-egzo-epoksydu, AFB₁-endo-epoksydu oraz mniej mutagennych AFM₁, AFQ₁, AFP₁, które są wydalane z żółcią i moczem po koniugacji [112,117]. Natomiast AFB₁-8,9-egzo-epoksyd tworzy wiązanie kowalencyjne z azotem N-7 guaniny i powstaje addukt AFB₁-N7-guaniny. Dihydrodiol, który jest produktem uwodnienia AFB₁-8,9-egzo-epoksydu wiąże się kowalencyjnie z albuminą oraz lizyną tworząc odpowiednio addukty AFB₁-albuminy i AFB₁-lizyny. Addukty aflatoksyny z DNA powodują mutację genu przyczyniając się do rozwoju nowotworów [8].

Na poziomie molekularnym, bardzo istotnym, patogenym skutkiem działania aflatoksyn jest indukowanie transwersji nukleotydów w kodonie białka p53, powodując unieczynnienie jednego z najważniejszych

supresorów nowotworowych w organizmie człowieka, uczestniczącego w aktywacji mechanizmów naprawy DNA lub indukcji apoptozy w odpowiedzi na uszkodzenia [62,75]. Aflatoksyny i ich metabolity oddziałują także w procesach modyfikacji potranslacyjnej białek, metylacji białek i kwasów nukleinowych, wpływają na DNA mitochondrialne oraz szlaki oddychania komórkowego przyczyniając się m.in. do zwiększenia powstawania wolnych rodników tlenowych [9].

Biomarkerami narażenia na aflatoksyny są: addukty aflatoksyny B₁ z DNA oraz addukt aflatoksyny B₁ i albuminy (AF-alb, aflatoxin B₁ albumin adduct) w surowicy krwi [34,115], a także addukty aflatoksyny B₁-N7-guaniny w moczu [38]. Obecność adduktów aflatoksyny i albuminy jest odzwierciedleniem narażenia w ciągu ostatnich 2-3 miesięcy, natomiast stężenie adduktów w moczu dotyczy ekspozycji na aflatoksyny przez ostatnie 24-48 h [34,115].

Addukt AF-alb wykorzystano m.in. w Gambii [108], Gwinei [22], Beninie oraz Togo [25] do oceny ekspozycji na aflatoksyny. Badania wykazały, że dzieci pochodzące z Gambii są często narażone na duże stężenie aflatok-

syny w żywności, a w związku z tym wzrasta ryzyko wystąpienia negatywnych skutków związanych z obecnością tych mykotoksyn w organizmie [108]. Oznaczenie adduktu aflatoksyna-albumina wśród dzieci w Togo i Beninie również dowiodło dużego narażenia na aflatoksyny już w życiu płodowym i następnie przez całe życie [25].

Natomiast w Nigerii analizowano biomarkery aflatoksyn w pierwszym porannym moczu wśród dzieci, młodzieży oraz dorosłych, porównując ich poziom ze stężeniem aflatoksyny w żywności spożywanej dzień wcześniej. Analiza statystyczna wyników wykazała nieznaczną, lecz statystycznie istotną dodatnią korelację tych dwóch wskaźników, co wskazuje, że poziom zanieczyszczenia spożywanej żywności ma odzwierciedlenie w oznaczonych biomarkerach [33].

Należy zwrócić uwagę, że nie ma stężenia aflatoksyny B1, które byloby uważane za bezpieczne i niemające wpływu na organizm [1].

Detoksykacja częściowa aflatoksyn w żywności jest możliwa przez adhezję do struktur ścian komórkowych bakterii kwasu mlekowego. Istotne jest to, że również martwe bakterie zachowują dużą zdolność wiązania aflatoksyny. Wiązanie to jednak jest odwracalne, a trwałość kompleksów zależy od szczepów, rodzaju działania (np. ogrzewanie, traktowanie kwasem) oraz warunków środowiskowych [27,40]. W ten sposób może nastąpić nawet 80% redukcja tego związku [27]. Innymi bakteriami mającymi zdolność detoksykacji aflatoksyny B1 są: *Nocardia corynebacteroides* [104], *Enterococcus faecium* [107], *Mycobacterium fluoranthenvivans* [44], *Corynebacterium rubrum* [68]. Skuteczny w procesie obniżania stężenia aflatoksyny w organizmie okazał się również enzym lakazy pochodzący z kilku gatunków grzybów [2]. Mimo pozytywnych wyników badań, nie opracowano zarówno bezpiecznego, praktycznego i rentownego sposobu usunięcia aflatoksyny B1 z żywności.

WYSTĘPOWANIE AFLATOKSYN W ŻYWNOCI

Głównym źródłem narażenia na toksyczne działanie aflatoksyn dla ludzi oraz zwierząt jest droga pokarmowa [84]. Aflatoksyny dostają się do organizmu przez spożywanie skażonych produktów rolnych, m.in. ziarna zbóż, orzechów, owoców suszonych (np. figi), olejów roślinnych [77], przypraw, a także mięsa i nabiału zwierząt spożywających zanieczyszczone tymi związkami pasze (tabela 1 i 2) [32]. Ze względu na powszechne uprawianie kukurydzy oraz ryżu są głównymi źródłami tych mykotoksyn w diecie człowieka i zwierząt domowych [13,59,81]. Struktura i wielkość ziarniaków kukurydzy oraz ich długi okres dojrzewania powodują, że znacznie częściej następuje zanieczyszczenie mykotoksyny w ziarniakach tego zboża niż w ziarniakach pszenicy i innych zbóż drobnoziarnistych. Na szkodliwe działanie aflatoksyny M1 znajdującej się w krowim mleku szczególnie narażone są małe dzieci. Wolne od aflatoksyn są

produkty owocowe zawierające duże ilości cukru (marmolady, dżemy) i warzywa, ponieważ grzyby *A. flavus* i *A. parasiticus* nie są osmofilne [48].

W Polsce aflatoksyny występują głównie w importowanych orzechach oraz kukurydzy, pochodzących z krajów o klimacie tropikalnym i subtropikalnym. W próbkach przetworów zbożowych badanych przez Stanisławczyka i wsp. średnia zawartość aflatoksyny B1 nie przekroczyła dopuszczalnej wartości (tab. 3). Natomiast średnia zawartość sumy aflatoksyn B1, B2, G1, G2 była największa w próbkach mąki i wynosiła 0,77 µg/kg. W pozostałych przetworach zbożowych średnia zawartość mykotoksyn wynosiła 0,3 µg/kg i nie przekraczała dozwolonych wartości (tab. 3) [102]. Wśród 91 próbek badanych na obecność sumy aflatoksyn B1, B2, G1, G2 przez Pokrzywę i wsp., mykotoksyny stwierdzono w 21 próbkach ziół i przypraw oraz 8 próbkach rodzynek. W grupie ziół i przypraw zawartość sumy aflatoksyn w 15 próbkach mieściła się w zakresie do 2,5 µg/kg (tj. 25% obowiązującego najwyższego dopuszczalnego poziomu). Zanieczyszczenie stwierdzono w próbkach: pieprzu, gałki muszkatołowej, chili, imbiru oraz kurkumy. Natomiast w 6 próbkach poziom tych związków wahał się w granicach 2,6-5,0 µg/kg (tj. 26-50% NDP). Badania dotyczące owoców suszonych wykazały natomiast obecność aflatoksyn w 8 z 17 badanych próbek rodzynek, przy czym tylko w jednej z nich w 26-50% NDP. Poziom sumy aflatoksyn we wszystkich badanych próbkach kukurydzy konserwowej (2 próbki), mąki kukurydzianej (3 próbki) i płatków kukurydzianych (14 próbek) był poniżej granicy oznaczalności metody [82]. Rybińska i wsp. poddali analizie 289 próbek orzechów arachidowych i ich przetworów oraz 199 próbek kukurydzy i przetworów. Wśród przebadanych próbek poziomy niezgodne z wymaganiami stwierdzono w orzechach arachidowych prażonych łuskanych zawierających sumę aflatoksyn na poziomie 28,94 µg/kg oraz w dwóch próbkach orzechów arachidowych prażonych w łupinach gdzie zawartość sumy aflatoksyn wynosiła 76,76 i 10,37 µg/kg. W kukurydzy oznaczone stężenia były niższe niż najwyższy dopuszczalny poziom zanieczyszczenia aflatoksynami [94]. Postupolski i wsp. oznaczyli zawartość aflatoksyn w 10 próbkach orzechów. W jednej próbce orzechów arachidowych importowanych z Chin stwierdzono wysokie stężenie aflatoksyn wynoszące 39 µg/kg. W dwóch innych próbkach orzechów oznaczono stężenie aflatoksyn na poziomie 0,2 i 2,4 µg/kg [83]. Natomiast Czerwiecki i wsp. poddali analizie próbki handlowe orzechów, ziarna pszenicy, mąki, ciastek oraz mieszanki przypraw. Wszystkie przebadane produkty odznaczały się zawartością aflatoksyny B1 poniżej dopuszczalnych maksymalnych poziomów obowiązujących w polskim i europejskim ustawodawstwie. Najliczniejszą grupę skażonych produktów stanowiły orzechy, ciastka i mieszanki przypraw kulinarnych [19].

Występowanie aflatoksyn w produktach spożywczych obecnych w obrocie handlowym w Polsce świadczy

Tabela 1. Występowanie aflatoksyn w żywności

Grupa produktów	Rodzaj produktu	Liczba próbek poddanych analizie	Liczba próbek zanieczyszczonych	Oznaczana aflatoksyna	Stężenie/zakres stężeń [ppb]	Kraj	Piśmiennictwo
Nasiona oleiste	Masło orzechowe	33	31	Suma AF ^a	0,7-95,9	Chiny	45
	Pistacje	10068	3699	AFB1	5,9 (średnia)	Iran	18
	Orzeszki ziemne	151	29	Suma AF ^b	0,16-60,9	Turcja	42
	Krem z orzechów włoskich	40	38	Suma AF ^b	0,625-10	Turcja	6
	Orzechy laskowe	51	43	Suma AF ^b	0,625-10	Turcja	6
	Orzechy arachidowe	7	3	Suma AF ^b	0,2-39	Polska	83
	Orzechy laskowe	15	14	AFB1	0,02-1,47	Polska	19
	Orzechy arachidowe	6	3	AFB1	0,01-0,04	Polska	19
	Orzechy inne	6	4	AFB1	0,01-0,16	Polska	19
	Orzechy arachidowe	289	108	Suma AF ^b	LOD ^c -76,76	Polska	94
Przyprawy	Papryka scaled	44	8	Suma B+G	1,1-97,5	Turcja	30
	Czerwona papryka w proszku	26	3	Suma B+G	1,8-16,4	Turcja	30
	Papryka czerwona mielona	75	72	AFB1	0,11-24,7	Turcja	3
	Papryka	20	19	AFB1	1,1-15,4	Maroko	26
	Kminek	20	5	AFB1	0,8-6,7	Maroko	26
	Czarny pieprz	20	3	AFB1	0,7-7,3	Maroko	26
	Biały pieprz	20	2	AFB1	2,8-3,7	Maroko	26
	Pieprz	11	11	Suma AF ^b	0,40-12,1	Polska	109
	Papryka słodka	12	12	Suma AF ^b	0,43-5,56	Polska	109
	Czarny pieprz	12	2	Suma AF ^b	0,15-0,55	Polska	109
	Biały pieprz	11	2	Suma AF ^b	0,14-0,25	Polska	109
	Chilli	10	5	Suma AF ^b	0,15-3,96	Polska	109
	Gałka muszkatołowa	10	10	Suma AF ^b	0,19-16,91	Polska	109
	Imbir	9	6	Suma AF ^b	0,15-5,61	Polska	109
	Kurkuma	9	5	Suma AF ^b	0,15-1,00	Polska	109
	Zioła i przyprawy	52	21	Suma AF ^b	LOQ ^d -5,0	Polska	82
	Mieszanki przypraw	10	9	AFB1	0,05-5	Polska	19

^aSuma AF: AFB1+AFB2+AFG1+AFG2+AFM1+AFM2, ^bSuma AF: AFB1+AFB2+AFG1+AFG2, ^cLOD – granica wykrywalności (limit of detection), ^dLOQ – granica oznaczalności (limit of quantification)

Tabela 2. Występowanie aflatoksyn w żywności

Grupa produktów	Rodzaj produktu	Liczba próbek poddanych analizie	Liczba próbek zanieczyszczonych	Oznaczana aflatoksyna	Stężenie/zakres stężeń [ppb]	Kraj	Piśmiennictwo
Produkty mleczne	Mleko UHT	129	75	AFM1	0,11 (średnia)	Turcja	110
	Surowe mleko krowie	74	70	AFM1	0,02-0,690	Syria	35
	Produkty mleczne dla niemowląt	87	76	AFM1	0,028-1,012	Indie	86
	Ser biały	100	82	AFM1	0,05-0,8	Turcja	96
	Masło	92	92	AFM1	0,01-7,00	Turcja	105
	Jogurt z kawałkami truskawek	48	16	AFM1	0,019-0,098	Portugalia	70
Zboża	Kukurydza	633	241	AFB1	1,1--2072	Chorwacja	80
	Ryż	1200	814	AFB1	0,1-308,0	Indie	88
	Sorgo	82	5	AFB1	<1,0-25,9	Etiopia	5
	Pszenica	41	24	Suma AF ^a	0,0104-0,6435	Turcja	37
	Jęczmień	115	13	AFB1	<1,0-11,7	Etiopia	5
	Mąka	6	-	Suma AF ^a	0,3-1,2	Polska	102
	Kasza	4	-	Suma AF ^a	0,3-0,4	Polska	102
	Makaron	11	-	Suma AF ^a	0,3-0,3	Polska	102
	Płatki owsiane	13	-	Suma AF ^a	0,3-0,3	Polska	102
	Mąka pszenna	10	2	AFB1	0,18-0,33	Polska	19
	Pszenica ziarno	7	0	AFB1	<0,05	Polska	19
	Ciastka	3	2	AFB1	0,06-0,31	Polska	19
	Kukurydza	199	160	Suma AF ^a	LOD ^c -4	Polska	94
	Kukurydza	140	108	AFB1	0,05-560	Włochy	15
	Kukurydza i przetwory	22	0	Suma AF ^a	< LOQ ^d	Polska	82
Owoce suszone	Rodzynki sułtańskie	19	3	Suma AFB1+AFB2	0,3-2,0	Brazylia	46
	Figi	2680	684	Suma AF ^a	nd ^b -278,04	Turcja	12
	Rodzynki	17	8	Suma AF ^a	LOQ ^c -5,0	Polska	82
	Suszone owoce	1373	187	Suma AF ^a	<0,1-1870	Włochy	77
Produkty pochodzenia zwierzęcego	Jajka	40	5	Suma AF ^a	0,20-5,80	Jordania	43
	Wołowina importowana	20	6	Suma AF ^a	1,10-8,32	Jordania	43
	Produkty z mięsa wieprzowego	410	17	AFB1	nd ^b -1,69	Chorwacja	79

^asuma aflatoksyn AFB1+AFB2+AFG1+AFG2

^bnie wykryto

^cLOD (limit of detection) – granica wykrywalności

^dLOQ (limit of quantification) – granica oznaczalności

o konieczności ciągłego nadzorowania importowanych środków spożywczych zanieczyszczeniami aflatoksynami.

W związku z zapotrzebowaniem na ryż, kukurydzę, pszenicę oraz inne produkty rolne istotne jest wykorzystanie wszelkich metod ochrony tych produktów przed infekcją grzybów. Całkowita eliminacja aflatoksyn z upraw rolnych jest praktycznie niemożliwa, ponieważ charakteryzują się dużą trwałością i odpornością na degradację w typowych sposobach przetwarzania, a ich obecność w produktach żywnościowych w dużej mierze zależy od warunków środowiskowych [111]. Skażenie płodów rolnych może nastąpić zarówno na etapie rozwoju rośliny na polu, jak i podczas obróbki, przechowywania czy transportu [50,82]. Najbardziej skutecznymi metodami zapobiegania powstawaniu aflatoksyn są: dobór odpowiednich odmian płodów rolnych, mniej podatnych na akumulację tych związków, stosowanie odpowiedniej ochrony roślin, ochrona roślin przed atakiem szkodników uszkadzających nasiona i roznoszących zarodniki grzybów. Istotne jest również zebranie płodów we właściwym czasie i właściwą metodą (ochrona przed uszkodzeniem i zabrudzeniem ziarna). Eliminacja narażenia na etapie handlu polega na korzystaniu z surowców pochodzących od sprawdzonych i renomowanych dostawców, sprawdzeniu specyfikacji jakości produktów [66], utrzymywaniu odpowiednich warunków przechowywania, a także zastosowaniu zasady pierwsze weszło-pierwsze wyszło (first in, first out - FIFO) jako metody zapewniającej odpowiednią rotację produktów w magazynach. Natomiast konsumenci przy zakupie produktów powinni sprawdzać w jaki sposób jest przechowywana żywność (suche, chłodne miejsce, szczelne opakowanie itp.)

W krajach należących do Unii Europejskiej obowiązuje Rozporządzenie Komisji (UE) NR 165/2010 z dnia 26 lutego 2010 r. [91] (wcześniej obowiązywało rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. [93]), które określa najwyższe dopuszczalne stężenia aflatoksyny M1, B1 oraz sumy aflatoksyn B1+B2+G1+G2 w środkach spożywczych (tabela 3).

W celu zminimalizowania potencjalnego ryzyka zdrowotnego związanego z występowaniem aflatoksyny w żywności wprowadzono określony system pobierania próbek, ich analizy oraz dostaw określonych produktów pochodzących lub sprowadzanych ze wskazanych krajów trzecich, o których mowa w Rozporządzeniu Komisji (WE) NR 1152/2009 z dnia 27 listopada 2009 r. [92]. W Polsce monitoring stężenia mykotoksyn w żywności jest prowadzony przez Państwową Inspekcję Sanitarną, która uzyskane rezultaty przekazuje do Zakładu Badań Żywności i Przedmiotów Użytku Państwowego Zakładu Higieny, który otrzymane dane analizuje i opracowuje w raportach do Głównego Inspektoratu Sanitarnego (GIS). Wysiłki monitoringu mają skutecznie ochronić konsumenta przed zagrożeniami żywieniowymi.

W związku z właściwościami rakotwórczymi aflatoksyn oraz ich częstym występowaniem w żywności i w paszach są rutynowo badane w produktach żywnościowych i rolnych. W celu określenia narażenia na aflatoksyny oznaczane są ich addukty w materiale biologicznym, takim jak krew [114], mocz oraz mleko matki [116].

Metody stosowane do oznaczenia aflatoksyn wykorzystują ich właściwości fizykochemiczne i polegają na ekstrakcji odpowiednim rozpuszczalnikiem (np. metanolem, acetonitrylem), oczyszczaniu ekstraktu z zanie-

Tabela 3. Najwyższe dopuszczalne poziomy aflatoksyny dla wybranych produktów spożywczych [91]

Produkty spożywcze	Najwyższe dopuszczalne poziomy [µg/kg]	
	AFB1	Suma AFB1, AFB2, AFG1, AFG2
Orzechy laskowe, orzechy brazylijskie	5,0	10,0
Suszone owoce	2,0	4,0
Kukurydza, ryż	5,0	10,0
Zboża	2,0	4,0
Mleko	-	-
Przyprawy: papryka, pieprz, gałka muszkatołowa, imbir, kurkuma	5,0	10,0
Przetworzona żywność na bazie zbóż oraz żywność dla niemowląt i małych dzieci	0,10	-
Preparaty do początkowego żywienia niemowląt i preparaty do dalszego żywienia niemowląt, w tym mleko początkowe i mleko następne	-	-
Dietetyczna żywność specjalnego przeznaczenia medycznego przeznaczona specjalnie dla niemowląt	0,10	-

czyszczeń oraz na oznaczeniu jakościowym i ilościowym. Ze względu na niewielkie stężenia aflatoksyny w produktach żywnościowych oraz w materiale biologicznym wykorzystuje się metody charakteryzujące się swoistością oraz dużą czułością. Jednymi z najczęściej stosowanymi metodami oznaczenia aflatoksyn są techniki chromatografii cienkowsarstwowej (TLC - thin-layer chromatography) [30,97], wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC - high-performance liquid chromatography) [18,23,42] oraz testy immunoenzymatyczne ELISA (ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay) [3,7,26]. Metody są czasochłonne oraz wymagają przede wszystkim drogiego sprzętu, szkodliwych rozpuszczalników i wykwalifikowanego personelu [31]. Coraz częściej stosowaną metodą jest HPLC-MS/MS (HPLC-MS/MS - high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry) za pomocą której można oznaczyć wiele mykotoksyn oraz ich metabolitów podczas jednego przygotowania próbki. Pozwala to zaoszczędzić czas oraz koszty związane z zużyciem odczynników [10].

NEGATYWNE SKUTKI DZIAŁANIA AFLATOKSYN NA ORGANIZM CZŁOWIEKA

Szacuje się, że na całym świecie aż 4,5 mld ludzi jest narażonych na niebezpieczne stężenia aflatoksyn [33]. Spożywanie przez ludzi zanieczyszczonej żywności może skutkować ostrymi lub przewlekłymi objawami toksycznymi, związanymi z kancerogennym, mutagenym, immunotoksycznym oraz ich teratogennym działaniem [29,74]. Aflatoksyny uszkadzają przede wszystkim wątrobę, nerki i ośrodkowy układ nerwowy. Objawy chorobowe zależą od częstotliwości ekspozycji oraz pochłoniętej dawki. Można obserwować krótkotrwałe zatrucia dużą ilością toksyn lub wieloletni, przewlekły proces zatrucia organizmu mniejszymi dawkami [65,75]. Objawami charakterystycznymi dla ostrych zatruc są: obrzęk płuc, krwotoki do narządów wewnętrznych, bóle brzucha, nudności, wymioty, narastające gwałtownie zażółcenie skóry i śluzówek, drgawki i śpiączka. W zatruciach przewlekłych występują objawy marskości wątroby, alergii skórne i oddechowe, upośledzenie wzrostu i rozwoju, zaburzenia umysłowe, obrzęki kończyn dolnych itp. [56,75,98].

W wyniku spożycia skażonej kukurydzy w 1974 r. w Indiach doszło do zatrucia aflatoksynami 397 osób, a 106 osób zmarło [11,54,55,87]. Przeprowadzono wówczas badania które wykazały, że chorzy mogli spożyć 2000-6000 µg/kg aflatoksyn obecnych w żywności każdego dnia w ciągu jednego miesiąca [87], a dzienna dawka pobrania aflatoksyn wynosiła 36,5-91 µg/kg masy ciała [54]. Chorzy cierpieli z powodu wysokiej gorączki, obrzęku kończyn oraz wątroby, bólu i szybko postępującej żółtaczki [11,54,55].

W 2004 r. zarejestrowano w Kenii 317 przypadków aflatoksykozy, w wyniku czego nastąpiło 125 zgonów. Źródłem zatrucia było spożycie skażonej kukurydzy, która została zebrana poza sezonem podczas pierwszych opadów deszczu [16,87]. Pobrano 342 próbki produk-

tów zawierających kukurydzę z regionów najbardziej dotkniętych aflatoksykozą. W 182 próbkach oznaczono aflatoksynę powyżej najwyższej dopuszczalnej granicy, która w Kenii wynosiła 20 µg/kg m.c., ponadto w wielu próbkach zawartość aflatoksyny była > 1000 µg/kg m.c. [16].

Zarejestrowano również przypadki wybuchu epidemii aflatoksykozy w Kenii w 1981 r., gdzie zgłosiło się 20 osób w wieku 2,5-45 lat z objawami dyskomfortu w jamie brzusznej, brakiem apetytu, złym samopoczuciem i stanem podgorączkowym [73]. U 12 pacjentów rozwinęła się niewydolność wątroby, z powodu której nastąpił ich zgon. W 2005 r. w Nigerii w wyniku zatrucia aflatoksynami zmarło ponad 100 osób, w tym samym roku w Kenii zachorowało 80 osób, a 30 osób zmarło, natomiast w 2006 r. w Kenii zmarło 9 osób [113].

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) w 1993 r. zakwalifikowała aflatoksyny B1 (AFB1) do grupy 1 jako „rakotwórczej dla ludzi” oraz aflatoksyny M1 do grupy 2B „jako możliwie rakotwórczej dla ludzi” [119]. Ze względu na bezpośrednią rolę aflatoksyn w procesach ekspresji genów, są od wielu lat przedmiotem zainteresowania nowej dziedziny nauki, jaką jest nutrigenomika [76].

Współczesne doniesienia naukowe jednoznacznie wskazują, że stała ekspozycja na mykotoksyny jest m.in. przyczyną zaburzeń wzrastania u dzieci. Obserwacje te dokumentują badania epidemiologiczne prowadzone w Afryce Zachodniej [120]. Ponadto aflatoksyna AF-alb odgrywa istotną rolę w rozprzestrzenianiu zakażenia HIV i AIDS, co ma związek z wpływem aflatoksyn na odpowiedź immunologiczną zależną od limfocytów CD4+ (CD - cluster of differentiation) [49].

Interesujące są także pojedyncze badania, w których autorzy sugerują wpływ aflatoksyn na rozwój zmian degeneracyjnych układu nerwowego i otępienia. Toksyny zawarte w paszach zwierząt miałyby, według dotychczasowych obserwacji, wpływać negatywnie na przepuszczalność bariery krew-mózg przez zaburzenie struktury fosfolipidowej, co przyczynia się do wzrostu podatności tkanki nerwowej na szkodliwe substancje i powstawanie zmian neurodegeneracyjnych. Ponadto aflatoksyny, podobnie jak niektóre leki, wykazują powinowactwo do melaniny, wiążąc ją uniemożliwiają jej prawidłowe wykorzystanie w organizmie, co przybiera obraz depigmentacyjnych zmian skórnych, ale także może wpływać na nieprawidłową czynność substancji czarnej OUN i przyczyniać się do powstawania zmian typowych dla choroby Parkinsona [51,99].

Znany jest także negatywny wpływ mykotoksyn na układ oddechowy. Aflatoksyny wywołują i nasilają różnorodne objawy alergiczne typu: nieżyt nosa, zmiany skórne, astma oskrzelowa, alergiczne zapalenie płuc, rzyków płucnych [14,118]. U osób narażonych na aflatoksyny wzrasta odpowiedź immunologiczna na alergeny

wziewne, jakimi mogą być zarodniki grzybów pleśniowych kolonizujące otoczenie człowieka [85,98]. W badaniach na modelu zwierzęcym wykazano, że przewlekłe narażenie na działanie mykotoksyny (aflatoksyna G1) powoduje u myszy doświadczalnych rozwój raka płuca [63].

Patogeneza chorób nowotworowych jest złożona, poza czynnikami genetycznymi bardzo dużą rolę przypisuje się różnorodnym czynnikom środowiskowym, wśród których ważne miejsce zajmuje narażenie na mykotoksyny. Wielu badaczy podkreśla epidemiologiczną zależność między stopniem narażenia na mykotoksyny, a częstością rozwoju niektórych nowotworów – raka przełyku, żołądka, pierwotnego raka wątroby, nowotworów płaskonabłonkowych głowy i szyi, tkanek miękkich oraz ostrych i przewlekłych białaczek [28,72]; niektórzy z nich koncentrują się na analizie mechanizmów molekularnych tych zależności [56,75]. Rolę aflatoksyn w rozwoju nowotworów potwierdzili już wiele lat temu Louria i wsp. [65], którzy przez rok obserwacji poddali myszy doświadczalne działaniu aflatoksyn podawanych z pożywieniem oraz w postaci aerozolu. Udowodnili, że przewlekłe narażenie na aflatoksyny B i G powoduje wzrost zachorowania na złośliwe nowotwory tkanek miękkich i białaczkę limfocytową. Mutagenne działanie aflatoksyn dostarczanych ze spożywaną żywnością, oparte na mechanizmie wiązania ich metabolitu - AFB1-8,9-epoksydu z DNA komórek, ma wpływ na rozwój m.in. raka przełyku i żołądka. Działanie mykotoksyn w tym przypadku jest potęgowane nadużywaniem alkoholu. Alkohol działając miejscowo na błonę śluzową uszkadza naturalną barierę ochronną śluzówki, ułatwiając przechodzenie toksyn do głębiej położonych warstw komórek [56,75]. Obecne badania irańskich naukowców prowadzone w regionie o wyższej niż średnia liczba zachorowań na raka przełyku wykazały, że przyczyną może być skażenie mąki toksynami *A. flavus* [36]. Eom i wsp. [29] analizując przyczyny zachorowań na raka żołądka w Korei Południowej podkreślili znaczenie aflatoksyny B1 obecnej w skażonej żywności, jako czynnika kancerogennego, znamienne statystycznie zwiększającego częstość występowania tego nowotworu. Również interesujące są wyniki badań dotyczące działania ochronnego probiotyków w rozwoju raka jelita grubego przez neutralizację toksycznego wpływu aflatoksyn i zmniejszanie odpowiedzi zapalnej [40,100].

Pierwotny rak wątroby, rak wątrobowokomórkowy (carcinoma hepatocellulare, HCC) rozwija się najczęściej na podłożu marskości wątroby, która powstaje m.in. w przebiegu przewlekłej infekcji wirusami hepatotropowymi typu B oraz C. Udowodniono, że spożywanie żywności zanieczyszczonej mykotoksynami

wytwarzanymi przez *Aspergillus flavus*, przyczynia się do szybszego rozwoju raka wątroby u osób z pierwotnie uszkodzoną wątrobą w przebiegu infekcji [61,67]. Współwystępowanie narażenia na aflatoksyny wraz z infekcją HBV istotnie zwiększa ryzyko rozwoju HCC niż brak tej koincydencji. Szacowany poziom ryzyka rozwoju HCC jest 6-krotnie wyższy dla osób przewlekle narażonych na działanie aflatoksyn, 11-krotnie dla osób z przewlekłą postacią infekcji HBV oraz aż 73-krotnie wyższy u osób z współwystępującym narażeniem na mykotoksyny i przewlekłą infekcją HBV [39]. Ogólnie, w około 155 000 przypadków zachorowań na raka wątrobowokomórkowego jednym z czynników etiologicznych są aflatoksyny [64].

Zależność udowodniono także w badaniach prowadzonych przez chińskich uczonych w regionach, w których spożywana jest żywność skażona aflatoksynami. Wśród mieszkańców tych regionów zapadalność na HCC jest szczególnie wysoka [53]. Obserwacje potwierdzono także w badaniach klinicznych – wśród pracowników cukrowni narażonych na przewlekły kontakt z aflatoksyną B1 i wysokimi stężeniami aflatoksyny B1 w surowicy, stwierdzono wyższe ryzyko zachorowania na pierwotnego raka wątroby [58]. Zanieczyszczenie żywności mykotoksynami i jej nieprawidłowe przechowywanie przyczyniają się do wzrostu zachorowań na HCC. Dotyczy to w największym stopniu regionów świata o niskim poziomie rozwoju gospodarczego – wschodnia Azja i Afryka [67].

PODSUMOWANIE

Możliwość zatrucia mykotoksynami należy rozważać w przypadkach: epidemicznie występujących zatruciu pokarmowych, także o ciężkim przebiegu z objawami niewydolności wątroby, alergii o objawach skórnej, pokarmowej i oddechowej oraz w diagnostyce raka wątrobowokomórkowego. Szczególnie interesującym kierunkiem badań wymagającym dalszych obserwacji, jest potencjalna rola mykotoksyn w rozwoju zmian neurodegeneracyjnych OUN. Nadal głównym źródłem narażenia na aflatoksyny, zarówno w krajach nisko jak i wysokorozwiniętych jest żywność, dlatego konieczne jest systematyczne i ścisłe monitorowanie próbek żywności. Ograniczanie zagrożenia wywołanego ich obecnością w paszach i żywności polega przede wszystkim na zapobieganiu syntezie mykotoksyn przez grzyby (stosowanie środków ochrony roślin, właściwe przechowywanie itp.) oraz na detoksykacji pasz i żywności.

Jednocześnie świadomość konsumentcka oraz wiedza na temat prawidłowych sposobów pozyskiwania i przechowywania żywności jest istotnym elementem prawidłowej profilaktyki i edukacji zdrowotnej.

PISMIENICTWO

- [1] Abia W.A., Warth B., Sulyok M., Krska R., Tchana A., Njobeh P.B., Turner P.C., Kouanfack C., Eyongetah M., Dutton M., Moundipa P.F.: Bio-monitoring of mycotoxin exposure in Cameroon using a urinary multi-biomarker approach. *Food Chem. Toxicol.*, 2013; 62: 927-934
- [2] Alberts J.F., Gelderblom W.C., Botha A., Van Zyl W.H.: Degradation of aflatoxin B₁ by fungal laccase enzymes. *Int. J. Food Microbiol.*, 2009; 135: 47-52
- [3] Ardic M., Karakaya Y., Atasever M., Durmaz H.: Determination of aflatoxin B₁ levels in deep-red ground pepper (isot) using immunoaffinity column combined with ELISA. *Food Chem. Toxicol.*, 2008; 46: 1596-1599
- [4] Asao T., Buechi G., Abdel-Kader M.M., Chang S.B., Wick E.L., Wogan G.N.: The structures of aflatoxins B and G. *J. Am. Chem. Soc.*, 1965; 87: 882-886
- [5] Ayalew A., Fehrmann H., Lepschy J., Beck R., Abate D.: Natural occurrence of mycotoxins in staple cereals from Ethiopia. *Mycopathologia*, 2006; 162: 57-63
- [6] Aycicek H., Aksoy A., Saygi S.: Determination of aflatoxin levels in some dairy and food products which consumed in Ankara, Turkey. *Food Control*, 2005; 16: 263-266
- [7] Aydin A., Erkan M.E., Baskaya R., Ciftcioglu G.: Determination of aflatoxin B₁ levels in powdered red pepper. *Food Control*, 2007; 18: 1015-1018
- [8] Bailey E.A., Iyer R.S., Stone M.P., Harris T.M., Essigmann J.M.: Mutational properties of the primary aflatoxin B₁-DNA adduct. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 1535-1539
- [9] Bbosa G.S., Kitya D., Odda J., Ogwal-Okeng J.: Aflatoxins metabolism, effects on epigenetic mechanisms and their role in carcinogenesis. *Health*, 2013; 5: 14-34
- [10] Berthiller F., Sulyok M., Krska R., Schuhmacher R.: Chromatographic methods for the simultaneous determination of mycotoxins and their conjugates in cereals. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007; 119: 33-37
- [11] Bhat R.V., Krishnamachari K.A.: Food toxins and disease outbreaks in India. *Arogya - J. Health Sci.*, 1978; 4: 92-100
- [12] Bircan C., Koç M.: Aflatoxins in dried figs in Turkey: A comparative survey on the exported and locally consumed dried figs for assessment of exposure. *J. Agr. Sci. Tech.*, 2012; 14: 1265-1274
- [13] Busman M., Bobell J.R., Maragos C.M.: Determination of the aflatoxin M₁ (AFM₁) from milk by direct analysis in real time - mass spectrometry (DART-MS). *Food Cont.*, 2015; 47: 592-598
- [14] Cakmak S., Dales R.E., Burnett R.T., Judek S., Coates F., Brook J.R.: Effect of airborne allergens on emergency visits by children for conjunctivitis and rhinitis. *Lancet*, 2002; 359: 947-948
- [15] Camardo Leggieri M., Bertuzzi T., Pietri A., Battilani P.: Mycotoxin occurrence in maize produced in Northern Italy over the years 2009-2011: focus on the role of crop related factors. *Phytopathol. Mediterr.*, 2015; 54: 212-221
- [16] Centers for Disease Control and Prevention: Outbreak of aflatoxin poisoning - Eastern and Central Provinces, Kenya, January - July 2004. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.*, 2004; 53: 790-793
- [17] Cheikowski J.: Mikotoksyny, grzyby toksynotwórcze i mikotoksykozy. www.cropnet.pl/dbases/mycotoxins.pdf (10.10.2015)
- [18] Cheraghali A.M., Zamanian F., Cheraghali A.M., Yazdanpanah H., Doraki N., Abouhossain G., Hassibi M., Ali-abadi S., Aliakbarpoor M., Amirahmadi M., Askarian A., Fallah N., Hashemi T., Jalali M., Kalantari N., Khodadadi E., Maddah B. i wsp.: Incidence of aflatoxins in Iran pistachio nuts. *Food Chem. Toxicol.*, 2007; 45: 812-816
- [19] Czerwiecki L., Wilczyńska G.: Optymalizacja metod oznaczania aflatoksyn w żywności z zastosowaniem postkolumnowego tworzenia pochodnych z bromem. *Roczn. PZH*, 2007; 58: 489-501
- [20] Dąbrowski Z.T., Beres P.K., Twardowski J.P., Hurej M., Klukowski Z., Warzecha R., Sowa S.: Możliwości i konsekwencje uprawy zmodyfikowanych genetycznie odmian kukurydzy odpornych na szkodniki. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin*, 2013; 53: 837-843
- [21] Davis N., Diener U.: Environmental factors affecting the production of aflatoxin. W: M. Herzberg [red.]. *Proceedings of the First US-Japan Conference on Toxic Microorganisms*. Govt Printing Office, Washington DC 1970: 43-47
- [22] Diallo M.S., Sylla A., Sidibe K., Sylla B.S., Trepo C.R., Wild C.P.: Prevalence of exposure to aflatoxin and hepatitis B and C viruses in Guinea, West Africa. *Nat. Toxins*, 1995; 3: 6-9
- [23] Dini A., Khazaeli P., Roohbakhsh A., Madadlou A., Pourenam-dari M., Setoodeh L., Askarian A., Doraki N., Farrokhi H., Moradi H., Khodadadi E.: Aflatoxin contamination level in Iran's pistachio nut during years 2009-2011. *Food Control*, 2013; 30: 540-544
- [24] D'Mello J.P., MacDonald A.M.: Mycotoxins. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 1997; 69: 155-166
- [25] Egal S., Hounsa A., Gong Y.Y., Turner P.C., Wild C.P., Hall A.J., Hell K., Cardwell K.F.: Dietary exposure to aflatoxin from maize and groundnut in young children from Benin and Togo, West Africa. *Int. J. Food Microbiol.*, 2005; 104: 215-224
- [26] El Mahgubi A., Puel O., Bailly S., Tadriss S., Querin A., Ouadia A., Oswald I.P., Bailly J.D.: Distribution and toxigenicity of *Aspergillus* section *Flavi* in spices marketed in Morocco. *Food Control*, 2013; 32: 143-148
- [27] El-Nezami H., Kankaanpää P., Salminen S., Ahokas J.: Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, Aflatoxin B₁. *Food Chem. Toxicol.*, 1998; 36: 321-326
- [28] England B., Huang T., Karsy M.: Current understanding of the role and targeting of tumor suppressor p53 in glioblastoma multiforme. *Tumour Biol.*, 2013; 34: 2063-2074
- [29] Eom S.Y., Yim D.H., Zhang Y., Yun J.K., Moon S.I., Yun H.Y., Song Y.J., Youn S.J., Hyun T., Park J.S., Kim B.S., Lee J.Y., Kim Y.D., Kim H.: Dietary aflatoxin B₁ intake, genetic polymorphisms of *CYP1A2*, *CYP2E1*, *EPHX1*, *GSTM1* and *GSTT1* and gastric cancer risk in Korean. *Cancer Causes Control*, 2013; 24: 1963-1972
- [30] Erdogan A.: The aflatoxin contamination of some pepper types sold in Turkey. *Chemosphere*, 2004; 56: 321-325
- [31] Espinosa-Calderón A., Contreras-Medina L.M., Munoz-Huerta R.F., Millan-Almaraz J.S., Gonzalez R.G., Torres-Pacheco I.: Methods for detection and quantification of aflatoxins. W: I. Torres-Pacheco (red.), *Aflatoxins - Detection, Measurement and Control*, InTech, 2011, 109-128
- [32] European Food Safety Authority (EFSA): Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to the potential increase of consumer health risk by a possible increase of the existing maximum levels for aflatoxins in almonds, hazelnuts and pistachios and derived products. Question N° EFSA-Q-2006-174. *EFSA J.*, 2007; 446: 1-127
- [33] Ezekiel C.N., Warth B., Ogara I.M., Abia W.A., Ezekiel V.C., Atehnkeng J., Sulyok M., Turner P.C., Tayo G.O., Krska R., Bandyopadhyay R.: Mycotoxin exposure in rural residents in northern Nigeria: A pilot study using multi-urinary biomarkers. *Environ. Int.* 2014; 66: 138-145
- [34] Gan L.S., Skipper P.L., Peng X.C., Groopman J.D., Chen J.S., Wogan G.N., Tannenbaum S.R.: Serum albumin adducts in the molecular epidemiology of aflatoxin carcinogenesis: correlation with aflatoxin B₁ intake and urinary excretion of aflatoxin M₁. *Carcinogenesis*, 1988; 9: 1323-1325

- [35] Ghanem I., Orfi M.: Aflatoxin M1 in raw, pasteurized and powdered milk available in the Syrian market. *Food Control*, 2009; 20: 603-605
- [36] Ghasemi-Kebria F., Joshaghani H., Taheri N.S., Semnani S., Aarabi M., Salamat F., Roshandel G.: Aflatoxin contamination of wheat flour and the risk of esophageal cancer in a high risk area in Iran. *Cancer Epidemiol.* 2013; 37: 290-293
- [37] Giray B., Girgin G., Engin A.B., Aydın S., Sahin G.: Aflatoxin levels in wheat samples consumed in some regions of Turkey. *Food Control*, 2007; 18: 23-29
- [38] Groopman J.D., Hasler J.A., Trudel L.J., Pikul A., Donahue P.R., Wogan G.N.: Molecular dosimetry in rat urine of aflatoxin-N7-guanine and other aflatoxin metabolites by multiple monoclonal antibody affinity chromatography and immunoaffinity/high performance liquid chromatography. *Cancer Res.*, 1992; 52: 267-274
- [39] Groopman J.D., Kensler T.W., Wild C.P.: Protective interventions to prevent aflatoxin-induced carcinogenesis in developing countries. *Annu. Rev. Public Health*, 2008; 29: 187-203
- [40] Haskard, C., El-Nezami, H., Kankaanpaa, P., Salminen, S., Ahokas, J.: Surface binding of aflatoxin B1 by lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2001; 67: 3086-3091
- [41] Heathcote J., Hibbert J.: Biochemical effects, structure, activity, relationship. W: Goldblatt L.A. [red.]: Aflatoxin: chemical and biological aspects. Elsevier Scientific, Amsterdam 1978: 112-130
- [42] Hepsag F., Golge O., Kabak B.: Quantitation of aflatoxins in pistachios and groundnuts using HPLC-FLD method. *Food Control*, 2014; 38: 75-81
- [43] Herzallah S.M.: Determination of aflatoxins in eggs, milk, meat and meat products using HPLC fluorescent and UV detectors. *Food Chemistry*, 2009; 114: 1141-1146
- [44] Hormisch D., Brost I., Kohring G.W., Giffhorn F., Kroppenstedt R.M., Stackebrandt E., Farber P., Holzapfel W.H.: *Mycobacterium fluoranthenorans* sp. nov., a fluoranthene and aflatoxin B₁ degrading bacterium from contaminated soil of a former coal gas plant. *Syst. Appl. Microbiol.*, 2004; 27: 553-660
- [45] Huang B., Han Z., Cai Z., Wu Y., Ren Y.: Simultaneous determination of aflatoxins B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ and M₂ in peanuts and their derivative products by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, 2010; 662: 62-68
- [46] Iamanaka B.T., de Menezes H.C., Vicente E., Leite R.S.F., Taniwaki M.H.: Aflatoxigenic fungi and aflatoxins occurrence in sultanas and dried figs commercialized in Brazil. *Food Control*, 2007; 18: 454-457
- [47] Iha M.H., Barbosa C.B., Okada I.A., Trucksess M.W.: Occurrence of aflatoxin M₁ in dairy products in Brazil. *Food Control*, 2011; 22: 1971-1974
- [48] Jarzynka S., Dąbkowska M., Netsvyetayeva I., Swoboda-Kopeć E.: Mikotoksyny – niebezpieczne metabolity grzybów pleśniowych. *Med. Rodz.*, 2010; 4: 113-119
- [49] Jiang Y., Jolly P., Preko P., Wang J.S., Ellis W.O., Phillips T.D., Williams J.H.: Aflatoxin-related immune dysfunction in health and in human immunodeficiency virus disease. *Clin. Dev. Immunol.*, 2008; 2008: 790309
- [50] Kamika I., Takoy L.L.: Natural occurrence of Aflatoxin B₁ in peanut collected from Kinshasa, Democratic Republic of Congo. *Food Control*, 2011; 22: 1760-1764
- [51] Karlsson O., Lindquist N.G.: Melanin affinity and its possible role in neurodegeneration. *J. Neural Transm.*, 2013; 120: 1623-1630
- [52] Klich M.A., Mullaney E.J., Daly C.B., Cary J.W.: Molecular and physiological aspects of aflatoxin and sterigmatocystin biosynthesis by *Aspergillus tamari* and *A. ochraceoseus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*; 2000; 53: 605-609
- [53] Kondo F., Wada K., Nagato Y., Nakajima T., Kondo Y., Hirooka N., Ebara M., Ohto M., Okuda K.: Biopsy diagnosis of well differentiated hepatocellular carcinoma based on new morphologic criteria. *Hepatology*, 1989; 9: 751-755
- [54] Krishnamachari K.A., Bhat R.V., Nagarajan V., Tilak T.B.: Hepatitis due to aflatoxicosis - an outbreak in western India. *Lancet*, 1975; 1: 1061-1063
- [55] Krishnamachari K.A., Bhat R.V., Nagarajan V., Tilak T.B.: Investigations into an outbreak of hepatitis in parts of Western India. *Indian J. Med. Res.*, 1975; 63: 1036-1048
- [56] Książczyńska D.: Czynniki środowiskowe a etiologia nowotworów złośliwych przelyku i żołądka. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2004; 13: 807-814
- [57] Kurtzman C.P., Horn B.W., Hesselstine C.W.: *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1987; 53: 147-158
- [58] Lai H., Mo X., Yang Y., He K., Xiao J., Lin C., Chen J., Lin Y.: Association between aflatoxin B1 occupational airway exposure and risk of HCC: a case-control study. *Tumour Biol.*, 2014; 35: 9577-9584
- [59] Lai X., Zhang H., Liu R., Liu C.: Potential for aflatoxin B₁ and B₂ production by *Aspergillus flavus* strains isolated from rice samples. *Saudi J. Biol. Sci.*, 2015; 22: 176-180
- [60] Lee L., Dunn J., Delucca A., Ciegler A.: Role of lactone ring of aflatoxin B1 in toxicity and mutagenicity. *Experientia*, 1981; 37: 16-17
- [61] Leong T.Y., Leong A.S.: Epidemiology and carcinogenesis of hepatocellular carcinoma. *HPB*, 2005; 7: 5-15
- [62] Levine A.J., Momand J., Finlay C.A.: The p53 tumor suppressor gene. *Nature*, 1991; 351: 453-456
- [63] Liu C., Shen H., Yi L., Shao P., Soulika A.M., Meng X., Xing L., Yan X., Zhang X.: Oral administration of aflatoxin G₁ induces chronic alveolar inflammation associated with lung tumorigenesis. *Toxicol. Lett.*, 2015; 232: 547-556
- [64] Liu Y., Chang C.C., Marsh G.M., Wu F.: Population attributable risk of aflatoxin-related liver cancer. *Eur. J. Cancer*, 2012; 48: 2125-2136
- [65] Louria D.B., Finkel G., Smith J.K., Buse M.: Aflatoxin-induced tumors in mice. *Sabouraudia*, 1974; 12: 371-375
- [66] Magan N., Aldred D.: Post-harvest control strategies: Minimizing mycotoxins in the food chain. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007; 119: 131-139
- [67] Małkowski P., Pacholczyk M., Łągiewska B., Adadyński L., Wasiak D., Kwiatkowski D., Chmura A., Czerwiński J.: Rak wątrobowokomórkowy – epidemiologia i leczenie. *Przegl. Epidemiol.*, 2006; 60: 731-740
- [68] Mann R., Rehm H.J.: Degradation of aflatoxin B1 by various microorganisms. *Z. Lebensm.-Untersuch. Forsch.*, 1977; 163: 39-43
- [69] Martins M.L., Martins H.M.: Aflatoxin M₁ in yoghurts in Portugal. *Int. J. Food Microbiol.*, 2004; 91: 315-317
- [70] Mendez-Albores A., Nicolas-Vazquez I., Miranda-Ruvalcaba R., Moreno-Martinez E.: Mass spectrometry/mass spectrometry study on the degradation of B-aflatoxins in maize with aqueous citric acid. *Am. J. Agri. Biolog. Sci.*, 2008; 3: 482-489
- [71] Moss M.O.: Mycotoxins. *Mycol. Res.*, 1996; 100: 513-523
- [72] Namaratha P.K., Urooj A.: Nutritional implications in head and neck cancer - a review. *Indian J. Nutr.*, 2014; 1: 103
- [73] Ngindu A., Johnson B.K., Kenya P.R., Ngira J.A., Ocheng D.M., Nandwa H., Omondi T.N., Jansen A.J., Ngare W., Kaviti J.N., Gatei D., Siogok T.A.: Outbreak of acute hepatitis caused by aflatoxin poisoning in Kenya. *Lancet*, 1982; 1: 1346-1348
- [74] Peers F.G., Linsell C.A.: Dietary aflatoxins and liver cancer - a population based study in Kenya. *Br. J. Cancer*, 1973; 27: 473-484
- [75] Pierzynowska J., Grzesiuk E.: Mutageność i kancerogeność aflatoksyny AFB₁. *Postępy Biochem.*, 1999; 45: 313-319

- [76] Pieszka M., Pietras M.P.: Nowe kierunki w badaniach żywieniowych - nutrigenomika. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 2010; 37: 83-103
- [77] Pietri A., Piva G.: Aflatoxins in foods. *Italian J. Public Health*, 2007; 4: 32-38
- [78] Pitt J.I., Miscamble B.F.: Water relations of *Aspergillus flavus* and closely related species. *J. Food Prot.*, 1995; 58: 86-90
- [79] Pleadin J., Staver M.M., Vahcic N., Kovacevic D., Milone S., Saftic L., Scortichini G.: Survey of aflatoxin B₁ and ochratoxin A occurrence in traditional meat products coming from Croatian households and markets. *Food Control*, 2015; 52: 71-77
- [80] Pleadin J., Vulic A., Persi N., Skrivanko M., Capek B., Cvetnic Z.: Aflatoxin B₁ occurrence in maize sampled from Croatian farms and feed factories during 2013. *Food Control*, 2014; 40: 286-291
- [81] Pleadin J., Vulic A., Perši N., Škrivanko M., Capek B., Cvetnić Ž.: Annual and regional variations of aflatoxin B₁ levels seen in grains and feed coming from Croatian dairy farms over a 5-year period. *Food Control*, 2015; 47: 221-225
- [82] Pokrzywa P., Cieślak E., Topolska K.: Ocena zawartości mikotoksyn w wybranych produktach spożywczych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007; 3: 139-146
- [83] Postupolski J., Jankowska B., Urbanek-Karłowska B.: Ocena metody oznaczania aflatoksyn w orzechach arachidowych przy użyciu chromatografii powinowactwa immunologicznego z detekcją fluorymetryczną. *Roczn. PZH*, 1996; 47: 277-283
- [84] Raad F., Nasreddine L., Hilan C., Bartosik M., Parent-Massin D.: Dietary exposure to aflatoxins, ochratoxin A and deoxynivalenol from a total diet study in an adult urban Lebanese population. *Food Chem. Toxicol.*, 2014; 73: 35-43
- [85] Raport National Institutes of Health National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI), World Health Organization WHO: Światowa strategia rozpoznawania, leczenia i prewencji astmy. *Med. Prakt.* 6 [wydanie specjalne] (2002) <http://www.mp.pl/artykuly/12084> (29.11.2014)
- [86] Rastogi S., Dwivedi P.D., Khanna S.K., Das M.: Detection of Aflatoxin M₁ contamination in milk and infant milk products from Indian markets by ELISA. *Food Control*, 2004; 15: 287-290
- [87] Reddy B.N., Raghavender C.R.: Outbreaks of aflatoxicoses in India. *African J. Food Agriculture, Nutrition and Development*, 2007; 7
- [88] Reddy K.R., Reddy C.S., Muralidharan K.: Detection of *Aspergillus* spp. and aflatoxin B₁ in rice in India. *Food Microbiol.*, 2009; 26: 2-31
- [89] Richard J.L.: Some major mycotoxins and their mycotoxicoses - an overview. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007; 119: 3-10
- [90] Richard J.L., Bennett G.A., Ross P.F., Nelson P.E.: Analysis of naturally occurring mycotoxins in feedstuffs and food. *J. Anim. Sci.*, 1993; 71: 2563-2574
- [91] Rozporządzenie Komisji (UE) NR 165/2010 z dnia 26 lutego 2010 r. zmieniające rozporządzenie (WE) 1881/2006 ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych w odniesieniu do aflatoksyn. *Dz. Urz. UE L*, 2010; 50: 8-12
- [92] Rozporządzenie Komisji (WE) NR 1152/2009 z dnia 27 listopada 2009 r. nakładające specjalne warunki dotyczące przywozu niektórych środków spożywczych z niektórych państw trzecich w związku z ryzykiem zanieczyszczenia aflatoksynami i uchylające decyzję 2006/504/WE. *Dz. Urz. UE L*, 2009; 313: 40-49
- [93] Rozporządzenie Komisji (WE) NR 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 r. ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych. *Dz. Urz. UE L*, 2006; 364: 5-24
- [94] Rybińska K., Postupolski J., Ledzion E., Kurpińska-Jaworska J., Szczęsna M.: Programy monitoringowe realizowane przez państwową inspekcję sanitarną w zakresie zanieczyszczenia wybranych środków spożywczych mikotoksynami. *Rocz. Panstw. Zakł. Hig.*, 2008; 59: 1-7
- [95] Sargeant K., Carraghan R.B., Allcroft R.: Toxic products in groundnuts. Chemistry and origin. *Chem. Ind., London*, 1963; 2: 53-55
- [96] Sarimehmetoglu B., Kuplulu O., Celik T.H.: Detection of aflatoxin M₁ in cheese samples by ELISA. *Food Control*, 2004; 15: 45-49
- [97] Sekiyama B.L., Ribeiro A.B., Machinski P.A., Machinski Jr M.: Aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in maize-based food products. *Braz. J. Microbiol.*, 2005; 36: 289-294
- [98] Semik-Orzech A., Barczyk A., Pierzchała W.: Wpływ występowania nadwrażliwości na alergeny grzybów na rozwój i przebieg chorób alergicznych układu oddechowego. *Pneumonol. Alergol. Pol.*, 2008; 76: 29-36
- [99] Semon B.: Dietary intake of cottonseed toxins is hypothesized to be a partial cause of Alzheimer's disorders. *Med. Hypotheses*, 2012; 78: 293-298
- [100] Silva A.M., Barbosa F.H., Duarte R., Vieira L.Q., Arantes R.M., Nicoli J.R.: Effect of *Bifidobacterium longum* ingestion on experimental salmonellosis in mice. *J. Appl. Microbiol.*, 2004; 97: 29-37
- [101] Smith J.E., Moss M.O.: Mycotoxins, formation, analysis and significance. *John Wiley and Sons*, New York, 1985
- [102] Stanisławczyk R., Rudy M., Świątek B.: Występowanie mikotoksyn w zbożach i przetworach zbożowych znajdujących się w placówkach handlowych województwa podkarpackiego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2010; 6: 58-66
- [103] Swenson D.H., Lin J.K., Miller E.C., Miller J.A.: Aflatoxin B₁-2,3 oxide as a probable intermediate in the covalent binding of aflatoxin B₁ and B₂ to rat liver DNA and ribosomal RNA in vivo. *Cancer Res.*, 1977; 37: 172-181
- [104] Tejada-Castaneda Z.I., Avila-Gonzalez E., Casaubon-Huguenin M.T., Cervantes-Olivares R.A., Vásquez-Peláez C., Hernández-Baumgarten E.M., Moreno-Martínez E.: Biotodetoxification of aflatoxin-contaminated chick feed. *Poult. Sci.*, 2008; 87: 1569-1576
- [105] Tekinsen K.K., Ucar G.: Aflatoxin M₁ levels in butter and cream cheese consumed in Turkey. *Food Control*, 2008; 19: 27-30
- [106] Thomson C., Henke S.E.: Effect of climate and type of storage container on aflatoxin production in corn and its associated risks to wildlife species. *J. Wildl. Dis.*, 2000; 36: 172-179
- [107] Topcu A., Bulat T., Wishah R., Boyaci I.H.: Detoxification of aflatoxin B₁ and patulin by *Enterococcus faecium* strains. *Int. J. Food Microbiol.*, 2010; 139: 202-205
- [108] Turner P.C., Moore S.E., Hall A.J., Prentice A.M., Wild C.P.: Modification of immune function through exposure to dietary aflatoxin in Gambian children. *Environ. Health Perspect.*, 2003; 111: 217-220
- [109] Twarużek M., Błajet-Kosicka A., Grajewski J.: Occurrence of aflatoxins in selected spices in Poland. *J. Verbr. Lebensm.*, 2013; 8: 57-60
- [110] Unusan N.: Occurrence of aflatoxin M₁ in UHT milk in Turkey. *Food Chem. Toxicol.*, 2006; 44: 1897-1900
- [111] Varga J., Péteri Z., Tábori K., Téren J., Vágvölgyi C.: Degradation of ochratoxin A and other mycotoxins by *Rhizopus* isolates. *Int. J. Food Microb.*, 2005; 99: 321-328
- [112] Vondracek M., Xi Z., Larsson P., Baker V., Mace K., Pfeifer A., Tjalve H., Donato M.T., Gomez-Lechon M.J., Grafstrom R.C.: Cytochrome P450 expression and related metabolism in human buccal mucosa. *Carcinogenesis*, 2001; 22: 481-488
- [113] Wagacha J.M., Muthomi J.W.: Mycotoxin problem in Africa: Current status, implications to food safety and health and possible management strategies. *Int. J. Food Microbiol.*, 2008; 124: 1-12
- [114] Wild C.P., Gong Y.Y.: Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. *Carcinogenesis*, 2010; 31: 71-82
- [115] Wild C.P., Hudson G.J., Sabbioni G., Chapot B., Hall A.J., Wogan G.N., Whittle H., Montesano R., Groopman J.D.: Dietary intake of

aflatoxins and the level of albumin-bound aflatoxin in peripheral blood in The Gambia, West Africa. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 1992; 1: 229-234

[116] Wild C.P., Pionneau F.A., Montesano R., Mutiro C.F., Chetsanga C.J.: Aflatoxin detected in human breast milk by immunoassay. *Int. J. Cancer*, 1987; 40: 328-333

[117] Wild C.P., Turner P.C.: The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions. *Mutagenesis*, 2002; 17: 471-481

[118] Wiszniewska M., Walusiak J., Gutarowska B., Żakowska Z., Pałczyński C.: Grzyby pleśniowe w środowisku komunalnym i w miejscu pracy-istotne zagrożenie zdrowotne. *Med. Pr.*, 2004; 55: 257-266

[119] World Health Organization (WHO), International Agency for

Research on Cancer (IARC): Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. Lyon, France 56, 1993 <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol56/mono56.pdf> (10.09.2015)

[120] Wu F.: Aflatoxin exposure and chronic human diseases: estimates of burden of disease. W: *Aflatoxins: finding solutions for improved food safety*. Red.: Unnevehr L., Grace D., International Food Policy Research Institute (IFPRI), Washington, DC, 2013; <http://www.ifpri.org/sites/default/files/publications/focus20.pdf> (26.01.2015)

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.