

**LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
VETERINARIJOS AKADEMIJA**

Veterinarijos fakultetas

Martynas Morkeliūnas

**Aflatoksino B1 bei kitų mikotoksinų ir jų producentų
paplitimas tam tikruose produktuose pagamintuose iš
kukurūzų**

**Prevalence of aflatoxin B1 and other mycotoxins, their
production in certain maize-based products**

Maisto mokslo nuolatinių studijų
MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

Darbo vadovė: lekt. dr., Jurgita Jovaišienė
Maisto saugos ir kokybės katedra

Kaunas, 2021

DARBAS ATLIKTAS MAISTO SAUGOS IR KOKYBĖS KATEDROJE

PATVIRTINIMAS APIE ATLIKTO DARBO SAVARANKIŠKUMĄ

Patvirtinu, kad įteikiamas magistro baigiamasis darbas „Aflatoksino B1 bei kitų mikotoksinų ir jų producentų paplitimas tam tikruose produktuose pagamintuose iš kukurūzų“.

1. Yra atliktas mano paties.
2. Nebuvo naudotas kitame universitete Lietuvoje ir užsienyje.
3. Nenaudojau šaltinių, kurie nėra nurodyti darbe, ir pateikiu visą naudotos literatūros sąrašą.

(data)

(autoriaus vardas, pavardė)

(parašas)

PATVIRTINIMAS APIE ATSAKOMYBĘ UŽ LIETUVIŲ KALBOS TAISYKLINGUMĄ ATLIKTAME DARBE

Patvirtinu lietuvių kalbos taisyklingumą atliktame darbe.

(data)

(redaktoriaus vardas, pavardė)

(parašas)

MAGISTRO BAIGIAMOJO DARBO VADOVO IŠVADA DĖL DARBO GYNIMO

(data)

(darbo vadovo vardas, pavardė)

(parašas)

MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS APROBUOTAS KATEDROJE (INSTITUTE)

(aprobacijos data)

*(katedros (instituto) vedėjo (-os)
vardas, pavardė)*

(parašas)

Magistro baigiamojo darbo recenzentai

1)

2)

(vardas, pavardė)

(parašai)

Magistro baigiamųjų darbų gynimo komisijos įvertinimas:

(data)

(gynimo komisijos sekretorės (-iaus) vardas, pavardė)

(parašas)

TURINYS

TURINYS.....	3
SANTRAUKA	5
SANTRUPOS.....	7
ĮVADAS	8
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	9
1.1 Lavašo gamybos technologija.....	9
1.1.1 Kukurūzų žaliavos nuėmimas.....	9
1.1.2 Rūšiavimas, pjaustymas ir valymas.....	9
1.1.3 Kukurūzų sandėliavimas.....	10
1.1.4 Kukurūzų džiovinimas.....	10
1.1.5 Kukurūzų grūdų malimas	11
1.1.6 Lavašų terminis apdorojimas.....	11
1.1.7 Lavašų laikymas	12
1.2 Kukurūzų malimas drėgnuoju būdu.....	12
1.3 Kukurūzų grūdų ekstrudacija.....	12
1.4 Nikstamalizacijos procesas	13
1.5 Kukurūzų fermentacija	14
1.6 Kukurūzų švitinimas jonizuojančia spinduliuote.....	14
1.7 Kukurūzų apdorojimas šalta plazma.....	15
1.8 Kukurūzų apdorojimas ozonu	15
1.9 Kukurūzų apdorojimas rūgštimi	16
1.10 Kukurūzų apdorojimas naudojant amoniaką.....	16
1.11 Kukurūzų apdorojimas pulsuojančios šviesos technologija.....	17
1.12 Mikrobangų poveikis kukurūzų grūdams.....	17
1.13 Aflatoksinams atsparios kukurūzų veislės	17
1.14 Natūralių žolelių ir prieskonių poveikis kukurūzų mikrobiologinei taršai.....	18
1.15 Kukurūzuose esančių aflatoksinų B1 kiekio nustatymo būdai.....	18
2. TYRIMO METODAI IR MEDŽIAGA.....	20
2.1 Tyrimo objektas	20
2.2 Mikroorganizmų nustatymas	21
2.3 Mikotoksinų nustatymas	22
2.3.1 Aflatoksino B1, Zearalenono, deoksinivalenolio koncentracijos nustatymas.....	22
2.4 Statistinė analizė	23

3. TYRIMO REZULTATAI.....	24
3.1 Kukurūzų grūdų ir lavašų užterštumas mikroorganizmais	24
3.2 Mikotoksinų nustatymo rezultatai	25
3.3 Pelėsinių grybų identifikavimo tyrimo rezultatai	28
3.4 Kukurūzų grūduose ir lavaše, keptame su bazilikais, taršos mikotoksinais palyginimas...	29
4. REZULTATŲ APTARIMAS.....	32
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	35

SANTRAUKA

Aflatoksino B1 bei kitų mikotoksinų ir jų producentų paplitimas tam tikruose produktuose pagamintuose iš kukurūzų

Martynas Morkeliūnas

Magistro baigiamasis darbas

Darbo apimtis: 42 puslapiai, 14 paveikslų.

Darbo tikslas: nustatyti ir įvertinti Aflatoksino B1 bei kitų mikotoksinų ir jų producentų paplitimą kukurūzų grūduose ir lavašuose, pagamintuose su skirtingais priedais.

Tyrimo metodai ir medžiagos: 10-tyje kukurūzų grūdų mėginių buvo nustatomas bendras mikroorganizmų, mielių ir pelėsių grybų skaičius, mikotoksinų koncentracija, atliekamas pelėsių grybų identifikavimo tyrimas. Iš septynių mėginių buvo gaminami lavašai, kurie tirti tokiais pačiais tyrimo metodais kaip ir kukurūzų grūdai, o gautas užterštumo skirtumas buvo palyginamas atlikus statistinę analizę gautų rezultatų patikimumui nustatyti. Trims likusiems kukurūzų grūdų mėginiams buvo atliktas mikotoksinų koncentracijos nustatymas, identifikuotas labiausiai užkrėstas mėginys ir naudojant raudonėlius, maltus lauro lapus bei baziliką nustatinėjama ar šie augaliniai priedai įtakojo mikotoksinų koncentracijų pokyčius pagamintuose lavašuose.

Tyrimo rezultatai ir išvados: Kukurūzų grūdų vidutinis bendras mikroorganizmų skaičius buvo $2,17 \pm 0,19 \log \text{KSV/g}$, pelėsių grybų ir mielių skaičius $1,7 \pm 0,32 \log \text{KSV/g}$, užterštumas mikotoksinais AFB1, OTA, ZEA, DON, T-2 ir H-2 siekė $1,43 \pm 0,92$, $1,71 \pm 0,81$, $160 \pm 97,85$, $250 \pm 77,15$, $0,04 \pm 0,04 \mu\text{g/kg}$ atitinkamai. Pelėsių grybų nustatytos gentys buvo *Rhizopus spp.* 83,57 $\pm 6,14$ proc., *Mucor spp.* - 12,14 $\pm 3,91$ proc., *Aspergillus spp.* - 4,29 $\pm 3,52$ proc. Lavašuose, lyginant su kukurūzų grūdais, 6 proc. sumažėjo bendras mikroorganizmų skaičius ir 5,88 proc. pelėsių grybų bei mielių skaičius. AFB1 koncentracija sumažėjo 25,16, OTA – 35,09, ZEA – 48,21, DON – 76,46 proc., tačiau T-2 ir H-2 mikotoksinų tarša išaugo nuo $0,04 \pm 0,04$ iki $21,43 \pm 21,43 \mu\text{g/kg}$, $p > 0,05$. *Rhizopus spp.* ir *Aspergillus spp.* lavašuose, lyginant su kukurūzų grūdais, sumažėjo 3,94 ir 66,67 proc. atitinkamai, o *Mucor spp.* išaugo 6,21 proc., $p > 0,05$. Lavašuose, pagamintuose su baziliku, raudonėliu ir lauro lapais AFB1 koncentracija buvo sumažinta 100 proc. ZEA koncentracija 100 proc. sumažinta mėginiuose su lauro lapais ir raudonėliais, tačiau padidėjo 42,86 proc. mėginyje, pagamintame su baziliku. DON ir OTA koncentracijos nebuvo nustatytos.

Raktažodžiai: Kukurūzų grūdai, lavašas, mikotoksinais, aflatoksinas B1

SUMMARY

Title of the Master's Thesis

Martynas Morkeliūnas

Master's Thesis

Thesis consists of: 42 pages, 14 pictures.

Aim of the thesis: Determine and evaluate the prevalence of aflatoxin B1, other mycotoxins and their producers in maize grains and lavashes produced with different additives.

Study methods and materials: The total number of microorganisms, yeasts and molds, mycotoxin concentration, and mold identification test were determined in 10 maize grain samples. Lavashes were produced from seven samples and tested using the same test methods as maize grains, the resulting contamination difference was compared to the reliability of the results obtained by statistical analysis. The three remaining maize grain samples were assayed for mycotoxins, the most infected sample was identified, and oregano, ground bay leaves, and basil were used to determine whether these plant additives affected changes in mycotoxin concentrations in the produced lavashes.

Study results and conclusions: The average total number of microorganisms in maize grains was 2.17 ± 0.19 log CFU/g, the number of molds and yeasts was 1.7 ± 0.32 log CFU/g. Mycotoxin contamination with AFB1, OTA, ZEA, DON, T-2 and H-2 was 1.43 ± 0.92 , 1.71 ± 0.81 , 160 ± 97.85 , 250 ± 77.15 , 0.04 ± 0.04 µg/kg, respectively. Detected genera of molds were *Rhizopus* spp. $83.57 \pm 6.14\%$, *Mucor* spp. - $12.14 \pm 3.91\%$ and *Aspergillus* spp. - $4.29 \pm 3.52\%$. In lavashes, compared to corn grains, the total number of microorganisms and number of molds and yeasts decreased by 6% and 5,88% respectively. AFB1 concentration decreased by 25.16%, OTA by 35.09%, ZEA by 48.21%, DON by 76.46%, but T-2 and H-2 mycotoxin contamination increased from 0.04 ± 0.04 to 21.43 ± 21.43 µg/kg, $p > 0.05$. *Rhizopus* spp. and *Aspergillus* spp. in lavash, compared to corn grains, decreased by 3.94 and 66.67 percent respectively, however, *Mucor* spp. increased by 6.21%, $p > 0.05$. In lavashes made with basil, oregano and bay leaves, the AFB1 concentration was reduced by 100%. ZEA concentration decreased 100% in samples with bay leaves and oregano, but increased by 42.86% in a sample prepared with basil. DON and OTA concentrations were not detected.

Key words: maize grains, lavash, mycotoxins, aflatoxin B1

SANTRUPOS

mol/l – molinė koncentracija litre

kGy - kilogrėjai

pH – vandenilio potencialas

µg/kg – mikrogramai kilograme

ng/g – nanogramai grame

mg/kg – miligramai kilograme

kHz – kilohercas

GHz -gigahercas

MHz - megahercas

m – metrai

mm – milimetrai

Nm - nanometrai

W - vatas

kW - kilovatas

M – molinė koncentracija

N – niutonai

Ppb – milijardinė dalis

J/cm² - džaulis kvadratiniam centimetrui

log KSV/g – logaritminė kolonijas sudarančių vienetų skaičiaus grame dalis

p – reikšmingumo lygmuo

AF – Aflatoksinas

AFB1 – Aflatoksinas B1

AFB2 – Aflatoksinas B2

AFG1 – Aflatoksinas G1

FB - Fumonisinai

FB1 – Fumonisinai B1

ZEA - Zearalenonas

OTA – Ochratoksinas A

Proc. – procentai

Spp. – rūšys

PŠ – Pulsuojanti šviesa

IVADAS

Kukurūzai, kaip žaliava, buvo naudojama jau nuo labai senų laikų ir darė didelę įtaką primityvios agrokultūros atsiradimui ir bendruomenių augimui. Šiandien ši grūdinė kultūra turi užkoduotą didelės vertės genetinę informaciją bei puikiai adaptuojasi prie skirtingų ekosistemų. Kukurūzai taip pat yra svarbiausia grūdinė kultūra, kurios kasmetinė produkcija siekia 1 milijardą metrinių tonų [1]. Ši žaliava dažniausiai naudojama maistui, gyvulių pašarams, biokurui, kitoms pramoninėms reikmėms. Maisto pramonėje iš kukurūzų dažniausiai gaminami sausi pusryčiai, įvairūs užkandžiai, košės, mielės ir raugai, alus, distiliuotas spiritas [2]. Pilno grūdo kukurūzų grūdai turi unikalią maistinių medžiagų kompoziciją, lyginant su kitomis pilno grūdo kultūromis. Kukurūzų grūduose randama vitaminų A, B, E ir K, magnio, fosforo, kalio bei fenolinių rūgščių, karotenoidų ir flavonoidų, maistinių skaidulų, kurios mažina riziką susirgti širdies ir kraujagyslių ligomis, 2 tipo diabetu, saugo nuo nutukimo, gerina virškinamojo trakto veiklą [3]. Maisto saugos aspektu, kukurūzų grūdų kultūros gali būti užkrečiamos pelėsiu laukuose arba sandėliavimo metu [4]. Kai kurios pelėsinių grybų rūšys gali produkuoti mikotoksinus, tokius kaip: aflatoksinai (AF), ochratoksinas A (OTA), fumonisinas (FB), deoksinivalenolis (DON), zearalenonas (ZEA) [4]. Iš visų AF, aflatoksinas B1 (AFB1) yra vienas stipriausių aplinkoje esančių kancerogenų [5]. Manoma, kad AFB1 gali tapti problema saugant kukurūzų derlių Europoje, ypač vykstant klimato kaitai, kai Žemės temperatūra, tikėtina, pakils 2°C [6].

Darbo tikslas: nustatyti ir įvertinti AFB1 bei kitų mikotoksinų ir jų producentų paplitimą kukurūzų grūduose ir lavašuose, pagamintuose su skirtingais priedais.

Darbo uždaviniai:

1. Nustatyti kukurūzų grūdų mikrobiologinę taršą, bei užterštumą pelėsiniais grybais, jų gentimis ir mikotoksinais;
2. Nustatyti lavašų mikrobiologinę taršą bei užterštumą pelėsiniais grybais, jų gentimis ir mikotoksinais, palyginti su tarša nustatyta kukurūzų grūduose;
3. Palyginti kukurūzų grūdų ir lavašo, pagaminto naudojant priedus, taršą mikotoksinais.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 Lavašo gamybos technologija

1.1.1 Kukurūzų žaliavos nuėmimas

Beveik visi kukurūzai, auginami grūdams, yra nuimami naudojant savaeigius kombainus. Derliaus nuėmimo laikas, trukmė, naudojami metodai, įtakoja kukurūzų grūdų kokybę, derlingumą, bei gaunamą pelną [7]. Dažniausiai derlius imamas, kai branduolio drėgmės kiekis yra tarp 15 proc. ir 30 proc. Kai grūdams auginamo kukurūzo branduolys pasiekia fiziologinę brandą, jo drėgmė mažėja iki derliaus nuėmimo [8]. Praleidus optimalų grūdų nuėmimo laiką, derlius gali mažėti 0,5 proc. ar net daugiau per savaitę [7]. Viename tyrime, atliktame Serbijoje 2015 metais, buvo nustatyta, kad 57,2 proc. tirtuose mėginiuose, AFB1 koncentracijos vyravo tarp 1,3 µg/kg ir 88,8 µg/kg, o 32,2 proc. visų tirtų mėginių buvo netinkami vartoti žmonėms, nes viršijo leidžiamą koncentraciją [9]. Dėl prasto oro, apdorojimo nuėmimo laiku, gali susidaryti palankios sąlygos pelėsio augimui, kuris suteikia grūdams netinkamą kvapą, kenkia kokybei bei gyvulių ir žmonių sveikatai [10]. Reprodukcinėje fazėje karštos ir sausos sąlygos yra laikomos pagrindiniu rizikos faktoriumi ankstyvam grūdo užkrėtimui *Aspergillus flavus* pelėsiu ir tolimesnei AF gamyba [11]. Grūdų veislių įvairovė padėjo ne tik padidinti kukurūzų produkcijos kiekius, tačiau ir atrasti optimalių veislių, kurios yra atsparesnės išorės veiksniams (sausrai, šalčiui) ar, netgi, dalinai atsparios AF ir FB [12].

1.1.2 Rūšiavimas, pjaustymas ir valymas

Rūšiavimas, apipjaustymas ir valymas, pašalinant nereikalingas dalis – tai pirmiausiai, iškart po grūdų nuėmimo, prieš perdirbimo procesą, atliekami veiksmai [13]. Kukurūzų rūšiavimas ir apipjaustymas visiškai mikotoksinų koncentracijos nepašalina, ją tik sumažina, kadangi tai labai priklauso nuo apdorojamų grūdų pradinės būklės [14]. Vykdamas kukurūzų rūšiavimą ir naudojant įvairias technologijas, yra bandoma, kaip įmanoma geriau atskirti užsikrėtusius grūdus naudojant sietus ir vizualinę analizę, juostinius arba konvejerius su ritinėliais, taip atskiriant užkrėstas dalis nuo sveikų, kadangi užkrėstos kukurūzų dalys dažniausiai pasižymi pakitusia spalva, mažesniu svoriu [15]. Rūšiavimas vykdomas grūdus praleidžiant pro optinius sensorius, kurie, radus spalvos ar kitų parametrų neatitikimą, juos pašalina. Plovimas, norint sumažinti DON ir ZEA koncentraciją, buvo efektyvesnis naudojant 1 mol/l koncentracijos natrio karbonatą, kuris sumažino šių junginių koncentraciją 72-75 proc., 80-87 proc. atitinkamai. [16]. Toks fizinis valymas, kur pelėsio pažeisti branduoliai pašalinami nuo sveikų, gali sumažinti AF kiekį 40-80 proc., o FB - 26-69 proc. [4,14]. Viename tyrime DON ir ZEA koncentracijos buvo sumažintos 70-80 proc., tačiau buvo pašalinta didelė grūdų dalis (iki 69 proc.) [16]. Išorinės kukurūzų branduolio dalys, tokios kaip gemalas ir apyvaisis yra atskiriamos, nes jos yra naudojamos aliejui, o vidinė – endospermas, naudojamas maisto produktams gaminti, tokiems kaip kruopos, kukurūzų miltai, įvairūs užkandžiai. [17]. Mechaniškas

gemalo ir apyvaisio atskyrimas nuo endospermo yra kritiškai svarbus galiojimo laikui bei grūdo maistinių savybių išsaugojimui [18].

1.1.3 Kukurūzų sandėliavimas

Grybelio ir pelėsio įtakotas gedimas yra opi problema sandėliavimo metu [19]. Kaip gyvas organizmas, kukurūzas sudarytas daugiausiai iš angliavandenių ir turi mikrofloros įvairovę, nuo kurios grūdą reikia kuo greičiau apsaugoti, norint užkirsti kelią galimiems nuostoliams [7]. Sandėliavimo metu užteršti grūdai pradeda keisti spalvą, įgauna prastas juslines savybes, praranda sausųjų medžiagų kiekį. Šie faktoriai mažina maistinę kukurūzų vertę, trukdo gauti gerą perdirbamų grūdų kokybę [20]. Laikant kukurūzų grūdus, AF formuojasi 25°C ir aukštesnėje temperatūroje bei 16 proc. arba didesniame drėgmės kiekyje, todėl reiktų vengti šių rodiklių pasiekimo. Norint užkirsti kelią toksinų gamybai, grūdus reiktų laikyti žemesnėje nei 8°C temperatūroje [20,21]. FB gaminasi 10 – 37°C temperatūroje, optimali temperatūra – 15 – 30°C, tačiau FB dažniausiai susiformuoja prieš derliaus nuėmimą arba pradinėje sandėliavimo fazėje, o tolimesnio laikymo metu, FB koncentracija nedidėja, išskyrus labai ekstremalias sąlygas [22]. ZEA gaminančio *Fusarium* genties pelėsio produkavimo optimali temperatūra yra 20 – 25°C. Pagrindiniais veiksniais, dėl ko sandėliuojamuose grūduose atsiranda tarša mikotoksinais, yra laikoma temperatūra ir drėgmės aktyvumas grūduose. Norint užkirsti kelią mikotoksinių atsiradimui, yra naudojami įvairūs būdai, kurie dažniausiai būna paremti temperatūros reguliavimu, drėgmės kiekiu, pH bei substrato kilme [20]. Taip pat naudojant 0,02 proc. koncentracijos sudėtinius eterinius aliejus, buvo sumažintas bendras AFB1, ZEA ir DON kiekis per 12 mėnesių laikymo laikotarpį [23].

1.1.4 Kukurūzų džiovinimas

Mechaninis džiovinimas vykdomas karšto oro srautu arba kartu su kitais pažangesniais būdais, veikiant grūdus iki norimos drėgmės ribos [24]. Džiovinimas gali būti atliekamas natūraliai ir dirbtinai, džiovinant specialią aparatų pagalbą. Grūdų džiovinimo sistemos gali būti skirstomos į džiovinimą saulėje, džiovinimą krūvose, talpose ir naudojant nepertraukiamo srauto džiovinimą [19]. Kukurūzų džiovinimas taikomas norint užtikrinti reikiamą drėgmės kiekį, kuris turi siekti 13-14,5 proc., kad grūdinė kultūra būtų laikoma saugiai [24]. Norint kukurūzų grūdus apsaugoti nuo mikotoksinių koncentracijos didėjimo, patariama juos džiovinti kuo greičiau po derliaus nuėmimo. Taip pat džiovinimo metu reiktų atkreipti dėmesį ir į džiovinimo temperatūrą, kadangi daugelyje autorių atliktų tyrimų teigiama, jog didesnė nei 50°C temperatūra gali mechaniškai pažeisti grūdus, gali atsirasti įtrūkių, lūžinėti branduoliai. [19]. Dažniausiai grūdai apsaugomi juos džiovinant, tačiau yra ir kitų metodų, tokių kaip deguonies ribojimas talpose, naudojant chemines apsaugos priemones, mikrobangų naudojimas [7,19]. Viename tyrime kukurūzų grūdai prieš džiovinimo procesą buvo laikomi septynias dienas ir buvo nustatyta, jog FB koncentracija išaugo 77 proc., kai grūdų drėgmė buvo 25 proc., su 0,98 vandens aktyvumu [25]. Kito tyrimo metu, buvo nustatyta, jog natūraliai

atliekamas džiovinimas saulėje buvo efektyvesnis nei 10 minučių apdorojimas mikrobangomis (32 proc. AF kiekio sumažinimas), arba 25 kGy stiprumo švitinimas gama spinduliuote (43 proc. sumažinimas) [16].

1.1.5 Kukurūzų grūdų malimas

Sausasis malimas yra fizinis grūdų apdorojimo būdas, kuris susideda iš dviejų etapų, kurių pirmame, naudojant mašinas, yra atskiriamos endospermo ir gemalo dalys ir kukurūzai praeina tris skirtingas apdorojimo operacijas, o antrame etape tik endospermas panaudojamas įvairioms frakcijoms, produktams gauti [26]. Kukurūzų grūdų sausasis malimas naudojamas apdorojant žaliavą, kuri bus skirta gaminti pašarams ir maistui [17]. Teigiama, jog grūdų malimas sumažina mikotoksinų koncentraciją žmonių maistui naudojamose kukurūzo dalyse, tačiau tarša perkeliama į dalis, kurios yra naudojamos pašarų gamyboje [27]. Malimo metu tarša mikotoksinais gali būti perskirstyta ir koncentruota tam tikrose malūno dalyse, ir nėra jokios operacijos ar būdo, kuri juos sunaikintų. Dažniausiai malimo procese mikotoksinais koncentruojasi kukurūzo gemale ir sėlenose [4]. Prieš malimo procesą, grūduose esant AFB1 koncentracijai, yra naudojamas amoniakas, kuris, atlikus tyrimą parodė, kad gali sumažinti AF koncentraciją beveik 99 proc. bei sumažinti šio junginio toksiškumą [28].

1.1.6 Lavašų terminis apdorojimas

Terminį kukurūzų grūdų apdorojimą galima atlikti įvairiais būdais, tokiais kaip virimas, skrudinimas, kepinimas ir apdorojimas garais, taip sumažinant AF koncentracijos kiekį. Apdorojimo technologijos efektyvumas bei našumas priklauso nuo AF koncentracijos, mikotoksino jungimosi su maiste esančiais komponentais stiprumo, šilumos kiekio, drėgmės kiekio, pH, jonų stiprumo, vykdomo proceso kokybės bei sąlygų [29]. Sumaišius kukurūzų miltus su vandeniu gaunama tešla, kurią suformavus į apskritos formos tešlos blyną, lavašas toliau kepinamas. Kepimas vyksta trimis etapais: lavašai yra kepami kepat vieną pusę, tada apverčiant kita puse, kol, galiausiai, apverčiama dar kartą ir kepinama, kol lavašas išsilygina [30]. Atliktame tyrime, temperatūrai esant tarp 140 ir 200°C ir drėgmei tarp 17 ir 27 proc., buvo nustatytas 50 – 75 proc. mikotoksinų koncentracijos sumažėjimas mėginiuose, paimtuose iš vidutiniškai ir stipriai užkrėstų mėginių. [31]. Kitame tyrime buvo tirtos tortilijos, pagamintos naudojant kukurūzų grūdų mirkymą šarminiame tirpale, tada jų kepinimas ir, vėliau, traškučių gamyba. Buvo gauti rezultatai, jog po mirkymo AF koncentracija sumažėjo 52 proc., o po traškučių gamybos etapo net 84 proc. Tačiau terminis apdorojimas ne visada užtikrintai sumažina aflatoksinų kiekį ir, tiriant kukurūzų keksiukus po terminio apdorojimo, buvo rasta 87 ± 4 proc. aflatoksino koncentracija nuo pradinės taršos. FB1 yra gana stabilus ir atsparus karščiui, o atlikus tyrimą, kai buvo keptos bandelės 175°C ir 200°C temperatūrose, su šiuo mikotoksinu buvo gauta tik 16 ir 28 proc. FB1 koncentracijos redukcija atitinkamai [1].

1.1.7 Lavašų laikymas

Tortilijos, kaip maisto produktas, turi trumpą galiojimo laiką, kuris yra nuostoligas pramonei [32]. Pagrindiniai veiksniai dažniausiai galintys įtakoti galiojimo laiką sandėliuojamuose, laikomuose produktuose, yra žemas vandens aktyvumas, žema temperatūra, naudojama modifikuota dujų aplinka [33]. Galiojimo laikas buvo akivaizdžiai pailgintas laikant tortilijas šaldytuve, nenaudojus ir naudojant antimikrobines priemones. Tortilijas laikant 25°C, galiojimo laikas žymiai padidėjo, kai tortilijos buvo parūgštintos 0,45 proc. fumaro rūgštimi su K-Sorbatu ar Ca-propionatu, arba derinant šias dvi antimikrobines priemones [34]. Laikymas 4°C temperatūroje padidino tortilijų trapumą ir pakeitė dalelių dydžio pasiskirstymą (link didesnio rupių dalelių kiekio) kukurūzų tortilijų miltuose [32]. Kitame tyrime buvo nustatyta, kad tortilijų laikymo parametrai ir sąlygos gali turėti įtakos tortilijų pH, spalvai, tamprumo stiprumui, pjovimo jėgai, krakmolo retrogradacijai bei AF koncentracijai [35]. Bene populiariausias ir ekonomiškiausias būdas išlaikyti tortilijas saugiai vartoti ilgesnį laiką yra šiuos produktus papildyti šarminėmis savybėmis pasižyminčiu kalcio hidroksidu, ir taip tortilijose sukurti pH 9 ar dar didesnę šarminę aplinką. Taip pat naudojami ir kiti būdai, tokie kaip papildymas antimikrobinėmis medžiagomis, išrūgų produktais bei įvairiomis gumomis [34].

1.2 Kukurūzų malimas drėgnuoju būdu

Paprastai drėgnuoju būdu malami kukurūzai yra naudojami krakmolui, gemalams, glitimui, maistinėms skaiduloms išskirti [36]. Kukurūzus malant drėgnuoju būdu yra parenkami grūdai, kuriuose yra geresnės krakmolo ekstrakcijos savybės, mažai įtrūkimų, burbulės yra sunokusios, vidutinio tankio, o ši kokybės siekiamybė tinka ne tik drėgno, bet ir sauso malimo technologijai. [37] Malimo etapai sudaryti iš valymo, mirkymo, gemalo atskyrimo ir surinkimo, maistinių skaidulų išskyrimo ir atskyrimo, glitimo atskyrimo ir surinkimo, bei krakmolo separavimo [36]. Po drėgnojo malimo, tarša mikotoksinais nedingsta ir pasiskirsto produkuojamoje masėje. AF ir kiti mikotoksinais gali būti randami po mirkymo likusiame vandenyje, glitime, maistinėse skaidulose ir gemale, o krakmolai lieka labai mažai arba visai neužterštas mikotoksinais [1]. Viena tyrime buvo nustatyta, kad 40-50 proc. AF iš kukurūzų žaliavos pateko į nuo mirkymo proceso likusiame vandenyje, 28-38 proc. liko maistinėse skaidulose, 11-17 proc. glitime, 6-11 proc. gemale ir tik 1 proc. liko krakmolo frakcijoje. AF kiekį gali sumažinti ir cheminė detoksikacija, kuri drėgname malime naudojama pasitelkus sieros dioksidą, kuris kartu padeda ir lengvesniam gemalo, baltymų ir krakmolo atskyrimui [16].

1.3 Kukurūzų grūdų ekstrudacija

Maisto ekstrudacija yra maisto pramonės technologija, dėl kurios gaminamas platus įvairių produktų asortimentas, tokių kaip makaronai, įvairių grūdų dribsniai, užkandžiai ir t.t [38]. Šis būdas naudojamas produktams, kurie pagaminti iš grūdų, gaunant iš jų į tešlą panašų mišinį ir išstumiant per stacionarų metalinį vamzdį, sraigtinio veleno pagalba. Buvo nustatyta, kad ekstrudacija gali būti

naudojama, norint užkirsti kelią natūraliai atsirandantiems toksinams maiste [4]. Mikotoksinų koncentracijos mažinimas priklauso nuo ekstrudavimo temperatūros, veleno sukimosi greičio, ekstruduojamos medžiagos savybių, bei medžiagos laiko ekstrudatoriuje [1]. Ekstrudacijos pagalba atliekamas terminis apdorojimas yra efektyvesnis temperatūrai kylant, tačiau temperatūra, siekianti 160°C, gali padaryti neigiamą įtaką grūduose esančių baltymų kokybei [39]. Naudojant vien tik ekstrudacijos procesą, AF kiekį buvo galima sumažinti 50-80 proc., o papildžius amoniako hidroksidu (0,7 ir 1,0 proc.) arba bikarbonatu (0,4 proc.), AF koncentracija buvo sumažinta net iki 95 proc. Didžiausią mikotoksinų koncentracijos redukcija yra pasiekama 160°C ir aukštesnėje temperatūroje bei taikant ilgesnį proceso trukmę [1]. Kitame tyrime buvo nustatyta, jog ekstrudacijos procese naudojant kalcio hidroksidą ir vandenilio peroksidą, yra gaunamas didesnis AF detoksikavimas, nei naudojant šiuos du junginius atskirai [29]. FB1 lygį ekstrudacijos technologija pavyko sumažinti naudojant 160°C temperatūrą kartu su 10 proc. pridėtine gliukoze; kukurūzų grūduose buvo gauta 75-85 proc. FB1 koncentracijos redukcija. ZEA efektyviausia redukcija ekstrudavimo procese pasireiškė, kai buvo naudojamas maišomasis sraigtas ir 140°C temperatūra, taip sumažinant šio mikotoksino kiekį 66-83 proc. ir 73-83 proc. atitinkamai [1].

1.4 Nikstamalizacijos procesas

Nikstamalizacija yra procesas, kai kukurūzų grūdai yra verdami vandenyje, pridėjus kalkių ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) tada mirkant per naktį, nuplaunant ir malant iki tešlos konsistencijos bei formuojant į tortilijų formą [40]. Nikstamalizuoti miltai po visų proceso etapų išlaiko didelę dalį kukurūzuose esančių komponentų, tarp kurių ir nekrakmolingi polisacharidai, kurie turi savybes padidinti kukurūzų miltų gamybos našumą [41]. Keliuose tyrimuose buvo teigiama, kad tradicinė nikstamalizacija turi didelį potencialą AF kiekio mažinimui [42]. AFB1 kiekio mažėjimas nikstamalizacijos etape yra siejamas su hidroliziniu ląstelės laktoninio žiedo „atsivėrimu“, taip padidinant tirpumą bei išskiriant AF į vandenį, kuriame mirkomi ir termiškai apdorojami kukurūzų grūdai. [43]. Deja, tradiciškai atliekamas procesas turi ir minusų, tokių kaip didelis proceso atlikimo laikas, gana dideli vandens ir energijos kaštai, panaudotas po proceso vanduo turi didelį pH ir negali būti perdirbamas, todėl tiesiog šalinamas įvairiuose sąvartynuose. Vieno tyrimo metu, buvo tiriama, kaip kalkių kiekis įtakoja AF koncentraciją tortilijose ir buvo nustatyta, kad naudojus 0,6 proc. ir 1,87 proc. kalkių nebuvo ryškaus skirtumo tarp gautų rezultatų – 94 ir 95 proc. redukcija atitinkamai [42]. Atliktame tyrime naudojant tradicinį nikstamalizacijos procesą, FB kiekis buvo sumažintas 99 proc. naudojant 1,2 proc. kalkių koncentraciją, kartu su terminiu apdorojimu 100°C temperatūroje 1 valandą, o ZEA koncentracija buvo reikšmingai sumažinta naudojant pridėtinio 2 proc. kalcio hidroksido tirpalą [44].

1.5 Kukurūzų fermentacija

Fermentacija yra natūralus būdas norint apsaugoti maisto produktus bei, kai kuriais atvejais, ir padidinti jų maistinę vertę, taip pat sunaikinti arba slopinti ir nereikalingus bei kenksmingus junginius. Fermentacijos procese kukurūzų grūdai yra modifikuojami per kelis etapus, kuriuose yra veikiami fermentų ir mikrobiologinių fermentų (pieno rūgšties bakterijų, mielių). Kukurūzų detoksikacija fermentacijos metu gali būti pasiekta mikrobiologiškai juos surišant arba vykdant biotransformaciją į ne tokius toksiškus junginius [45]. Buvo nustatyta, kad kelios pieno rūgšties bakterijų padermės turi detoksikuojančių savybių naikinant mikotoksinus, be to, pieno rūgšties bakterijos yra laikomos saugiomis ir puikiai tinka kaip natūralus konservantas maiste ir pašaru pramonėje [45,46]. Pieno rūgšties bakterijų veikimo mechanizmas detoksikuojant toksiškas medžiagas, yra paremtas fiziniu susijungimu prie peptidoglikano ir polisacharidų esančių bakterijų sienelių [47]. Viename tyrime, *Lactobacillus acidophilus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. delbruekii*, and *L. plantarum* kultūros buvo naudotos inokuliuoti AFB1 ir gauti rezultatai parodė, kad šių mikotoksinų koncentracija kukurūzuose, užkrėstuose 50 ng/g kiekiu, sumažėjo iki 44,5 proc. [29] Kitame tyrime, kukurūzus fermentuojant ir pH sumažėjus iki 6,9-5,0, buvo pasiektas 52 proc. AF kiekio sumažėjimas naudojant natūralią fermentaciją ir 53,4 proc. naudojant mieles [47]. Kitame tyrime nustatyta, jog skirtingų mikotoksinų koncentracijos mažinimui bakterijų, naudojamų fermentacijoje, reikia vienos konkrečios arba daugiau nei vienos padermės bakterijų. Taip pat buvo tirtos ne pieno rūgšties bakterijoms priklausančios *Bacillus subtilis* kultūros, kurios, panaudojus 1 mg/kg bakterijų, po 24 valandų sumažino ZEA kiekį 99 proc. [45].

1.6 Kukurūzų švitinimas jonizuojančia spinduliuote

Švitinimas - tai tam tikros energijos išskyrimas ir jos sklidimas per erdvę ar materiją, norint maisto produktams suteikti ilgesnį galiojimo laiką bei padaryti juos kuo sterilesnius [48]. Spinduliuotė gali būti jonizuojanti ir nejonizuojanti. Gama spinduliuotė produkuojama naudojant Kobalto-60 ir Cezio-137 radijo-izotopus, jais atliekant grūdų švitinimą yra išvengiama cheminių priedų ir jų likučių [49]. Dažniausiai švitinimas gama spinduliuote yra naudojamas kartu su kitais procesais, tokiais kaip maišymas su vandeniu, norint padidinti AF koncentracijos mažinimo našumą [29,49]. Vanduo yra labai svarbi medžiaga norint mažinti AF koncentraciją, kadangi švitinimo metu, vykstant radiolizei, susidaro laisvieji radikalai, kurie per furano žiedą, esantį AF, padeda gauti mažesnio biologinio aktyvumo medžiagas. Taip pat mikotoksinų koncentracijos mažinimas priklauso ir nuo švitinimo dozės [49]. Viename tyrime buvo nurodyta, kad 6 ir 10 kGy kiekio spinduliuotė suteikė labai panašius AFB1 kiekio redukcijos kiekius, kurie siekė $89,59 \pm 4,81$ proc. ir $95,47 \pm 1,29$ proc. atitinkamai. Taip pat buvo nustatyta, kad optimaliausiems rezultatams gauti reikėtų pasirinkti 6 kGy spinduliuotės stiprį, dėl jo efektyvumo ir reikalingo kontakto trukmės [48]. Geltonųjų ir baltųjų kukurūzų tyrimas buvo atliktas, norint išsiaiškinti gama spinduliuotės poveikį ZEA, ir buvo gauta

nuo $24,8 \pm 4,1$ proc. iki $51,1 \pm 3,5$ proc. geltonojo ir nuo $20,3$ iki $59,9$ proc. baltojo kukurūzo ZEA redukcija. [50].

1.7 Kukurūzų apdorojimas šalta plazma

Apdorojimas šalta plazma yra ekologiškas būdas apsaugoti maistą nuo gedimo nenaudojant terminio jo apdorojimo ir gali būti naudojamas kaip alternatyvus būdas senoms arba dažniausiai naudojamoms technologijoms [51]. Šaltos plazmos naudojimas turi privalumų, tokių kaip mažas poveikis maisto kokybei, trumpas apdorojimo laikas, lyginant su įprastomis technologijomis [52]. Ši technologija veikia elektros iškrovai palaikant atmosferinį slėgį ir pagaminama naudojant energijos šaltinį, kuris gali palaikyti 100-150 kHz dažnį ir iki 2kW galią [53]. Šalta plazma yra sudaryta iš labai reaktyvių dalelių, tokių kaip dujos, teigiami ir neigiami jonai, laisvieji radikalai, elektronai. Apdorojimo šalta plazma efektyvumo veiksniai gali priklausyti nuo proceso trukmės, produkto laikymo po apdorojimo, maišymo [52]. Viename tyrime buvo tikrinama šaltos plazmos įtaka kukurūzų grūdų apsaugojimui nuo AF ir buvo nustatyta, kad modifikuotomis oro sąlygomis, srovės dažniui, laikui, drėgmei ir įtampai AF kiekį pavyko sumažinti nuo 62 iki 82 proc., priklausomai nuo tyrimo trukmės. Kitame tyrime optimizuotomis sąlygomis buvo pasiektas AFB1 kiekio sumažinimas iki 70-90 proc. naudojant dialektrinio barjero iškrovos metodą plazmai gauti [54]. Atmosferiniame slėgyje produkuota plazma, DON koncentraciją mažino palaipsniui viso apdorojimo metu, iki maždaug 82 proc. lyginant nuo pradinės tyrimo vertės. Naudojant žemą slėgį per pirmas dvi minutes mikotoksinų tarša mažėjo labai sparčiai ir buvo gauta 28 proc. redukcija nuo jų pradinės vertės [55].

1.8 Kukurūzų apdorojimas ozonu

Ozonas (O_3) yra triatominė deguonies molekulė, kuri susidaro prie deguonies (O_2) pridėjus deguonies atomą ir gaunant labai nestabilų, tačiau gerų oksidacinių savybių turintį junginį. Ozonas buvo naudotas mažinant įvairių mikotoksinų koncentracijas, įskaitant ir AF, kuriuos ozonas elektrofiliškai veikia paveikdamas 8 ir 9 dvigubą furano žiedo jungtį, ir mikotoksinas yra perskirstomas į monozonidų darinius, tokius kaip aldehydai, ketonai ir organinės rūgštys [56]. Ozonas yra saugus naudoti ir gali būti naudojamas kaip dezinfekavimo, antimikrobinių savybių turinti medžiaga maisto pramonėje [57] O_3 efektyvumas dažniausiai priklauso nuo ozono koncentracijos, apdorojimo laiko, produkto temperatūros, drėgmės kiekio, o didžiausi AF koncentracijos kiekio pakitimai vyko dėl ozono koncentracijos ir apdorojimo laiko [58]. Viename tyrime buvo tirta ozono įtaka AFB1 koncentracijai ir buvo nustatyta, kad 2 ppb ir 10 ppb koncentracijos buvo sumažintos per 3-7 min ir 3-4 min atitinkamai [56]. Kitame tyrime ozono 2 g/min koncentracija buvo veikiamas *A. flavus* pelėsis ir buvo gauta, kad po 10 minučių apdorojimo, šio mikotoksino gaminančio pelėsio degradacija buvo didelė ir siekė 83,30 proc. [59]. Tiriant kukurūzų miltus ir apdorojus juos 75 mg/l ozono kiekiu 60 minučių, buvo gauta, jog miltuose buvusios AFB1 ir Aflatoksino B2 (AFB2)

koncentracijos, pakito nuo 53,60 µg/kg ir 2,42 µg/kg pradinio užterštumo iki 11,38 µg/kg ir 0,71 µg/kg galutinės taršos atitinkamai [60].

1.9 Kukurūzų apdorojimas rūgštimi

Kukurūzų grūdų apdorojimas, kai kuriomis organinėmis rūgštimis, tokiomis kaip acto, pieno, benzonine ir citrinų, gali sumažinti AFB1 toksiškumą, jį transformuoti į mažiau toksišką Aflatoksina B_{2a} (AFB_{2a}) [61,62]. AF transformacija vyksta, kai rūgšties veikiama AFB1 molekulės galutinė 8,9-olefino furano žiedo jungtis, yra hidratuojama ir gaunama AFB_{2a} molekulė, kuri turi tik 1/200 toksiškumo santykį, palyginus su AFB1 [63]. Nors rūgštys ir turi savybes sumažinti arba visai sunaikinti mikotoksinų taršą, tačiau, panaikinus rūgštinę terpę, susidarę skilimo produktai gali virsti pirminiais toksiškais produktais, todėl rekomenduojama apdorojimą rūgštimis derinti su kitomis technologijomis, tokiomis kaip aukštas slėgis ar terminis apdorojimas [30]. Viena tyrimų buvo tirta citrinos rūgštis ir jos efektyvumas mažinant AFB1 toksiškumą ir buvo nustatyta, kad kambario temperatūroje 1 M koncentracijos rūgštis konvertavo daugiau nei 97 proc. toksiškesnio mikotoksino į AFB_{2a} per 96 valandas [61]. Kitame tyrime kukurūzai buvo apdorjami 1 N koncentracijos vandeniniu citrinos rūgšties tirpalu 15 minučių ir buvo gauta, kad grūdai užkrėsti 29 ng/g AF koncentracija buvo sunaikinta visiškai, o koncentracijai esant 93 ng/g buvo gautas 96,7 proc. AF kiekio sumažėjimas [64]. Tiriant 10 proc. koncentracijos acto rūgšties poveikį AF koncentracijai buvo nustatyta, jog rūgštis sumažino *A. flavus* kiekį 45,21 proc. [62].

1.10 Kukurūzų apdorojimas naudojant amoniaką

Amoniakas išsiskiria iš kitų cheminių apdorojimo būdų tuo, kad yra vienas iš efektyviausių būdų mažinti AF koncentracijas bei pripažintas kukurūzų grūdų gamybos pramonėje. [65]. Kukurūzų apdorojimas dujiniu amoniaku arba amoniako chloridu buvo pateiktas kaip procesas, kuris mažina AF toksiškumą iki 75 proc. ir daugiau, o OTA koncentracija šiuo metodu buvo sumažinta beveik visiškai [66]. Yra daug būdų, kaip naudojant amoniaką yra apdorjami kukurūzai, tačiau vieni iš populiariausių yra naudojami kartu su aukštu slėgiu ir temperatūra arba atmosferiniu slėgiu ir vidutine temperatūra, šie būdai gali sumažinti mikotoksinų koncentraciją iki 90 proc. [65]. AFB1 naudojant amoniaką nėra sunaikinamas, o skaidomas hidrolizuojant laktono žiedą ir, galiausiai, dekarboksilinamas į aflatoksina D1 (AFD1), kuris yra mažesnio toksiškumo ir mutageniškumo [60,65]. Šio proceso efektyvumas taip pat priklauso nuo temperatūros, drėgmės, proceso trukmės [16]. Yra ir apdorojimo amoniaku minusų, kadangi šio proceso metu mažėja produktų maistinė vertė [66]. Nors FB1 koncentracija naudojant amoniaką buvo sumažinta 79 proc., tačiau kukurūzuose šis apdorojimo būdas buvo neveiksmingas [16]. Viena tyrimų buvo tiriama amoniako persulfato ir amoniako redukcija įvairiuose grūduose ir buvo nustatyta, jog persulfatas AFB1 kiekį sumažino 53-87 proc., o amoniakas, laikant 40-50 °C ir apdorojant 48 valandas nuo 1280 ppb iki 10 ppb [67].

1.11 Kukurūzų apdorojimas pulsuojančios šviesos technologija

Pulsuojančios šviesos (PŠ) technologija yra nesenai atsiradęs būdas, kuriuo galima naikinti ir detoksikuoti AF maisto produktuose bei iš jų gaunamuose šalutiniuose produktuose [68]. PŠ bangos ilgis gali siekti nuo 100 iki 1100 nm ir yra sudarytas iš trijų spektrų, kurių pirma zona yra infraraudonoji spinduliuotė, kuri sudaro 20 proc., tada matoma šviesa – 26 proc. ir ultravioletiniai spinduliai – 54 proc. PŠ technologijos efektyvumas dažniausiai priklauso nuo pulsų kiekio apdorojimo metu, pulsų stiprumo, atstumo tarp veikiamo produkto ir lempos, produkto storio, bei produkto sudedamųjų savybių. PŠ kenksmingus junginius detoksikuoja įvairiais mechanizmais, kurie yra įvardinami kaip fotocheminis, foto-šiluminis poveikis bei struktūrinė žala, kurią sukelia didelės galios pikas sukeltas foto-fizinio efekto [69]. Vieno tyrimo metu buvo tirtas PŠ poveikis AFB1 ryžiuose ir buvo išsiaiškinta, jog, taikant šią technologiją 80 sekundžių 84,4 J/cm² jėga, AFB1 koncentracija buvo sumažinta 75 proc. [68]. Šios technologijos efektyvumas taip pat priklauso ir nuo produkto savybių bei sudėties, kadangi teigiama, jog daug baltymų arba riebalų turintis maistas yra netinkamas apdoroti šiuo būdu dėl baltymų ir riebalų savybės absorbuoti pulsuojančios šviesos spinduliavimą [70].

1.12 Mikrobangų poveikis kukurūzų grūdams

Mikrobangos yra elektromagnetinės radiacijos sukeltos bangos, kurių dažnio diapazonas yra tarp 0,3 GHz ir 300 GHz ir ilgis tarp 1 mm, ir 1 m. AF koncentracijos kiekis dažniausiai priklauso nuo mikrobangų stiprumo, apdorojimo laiko ir kaitinimo temperatūros. Mikrobangomis atliekamuose procesuose temperatūra yra labai svarbus rodiklis, kuris turėtų siekti 150°C, kad būtų pasiektas iki 90 proc. AF koncentracijos sumažinimas [49]. Viena tyrimo metu buvo tirtas mikrobangų terminis apdorojimas nikstamalizacijos procese ir gauti rezultatai parodė, jog buvo pasiekta 36-82 proc. AF kiekio redukcija su atitinkamai didesniu šių mikotoksinų sumažėjimo lygiu augant užterštumui [42]. Dar viename tyrimo metu, analizuojant mikrobangų poveikį nikstamalizacijos procese, buvo gauta, jog naudojant 1650 W galios, 2450 MHz dažnio parametrus ir termiškai apdorojant 5,5 minutes, buvo gauta AFB1 ir AFB2 koncentracijos redukcija 36 ir 58 proc. atitinkamai [71]. Kitame tyrimo metu kukurūzų grūdai buvo veikti 1,3 kW 6 minutes 140°C ir 170°C - nebuvo gautas radikalus pokytis tarp šių naudotų temperatūrų (AF koncentracija buvo sumažinta 98 ir 97 proc. atitinkamai). [72]. Mikrobangomis apdorojant DON 175°C temperatūroje buvo gauta tik 40 proc. šių mikotoksinų koncentracijos redukcija, kuri atsirado dėl DON virimo į ne tokius toksiškus junginius [13]. Taip pat grūdų džiovinimas mikrobangomis turi ir minusų, tokių kaip netolygus produkto kaitinimas, ribotas bangų prasiskverbimas, galimus grūdų pažeidimus dėl sunkios temperatūros kontrolės. [72]

1.13 Aflatoksinams atsparios kukurūzų veislės

Bandymai sukurti atsparias AF grūdines kultūras yra atliekami nuo maždaug 1970 metų [73]. Kukurūzų atsparumas AF taršai yra laikomas pageidautinas būdas apsaugoti grūdus. *A. flavus*

infekcijai ir taršai atsparias kukurūzų veisles ir reikalingus genotipus pavyko patobulinti naudojant pažangesnes inokuliacijos ir įvertinimo technikas [74]. Technologijos ir technikos, naudojamos atsparesnių kukurūzų grūdų veislėms auginti, yra įvairios: tradicinių veislių auginimas, mutacinių procesų paveiktų veislių auginimas bei molekulinis poveikis (įskaičiuojant transgeniką ir molekulinis žymeklius). Tradicinis arba įprastinis kukurūzų veislių auginimas labai prisidėjo produkuojant didesnę kiekį šių grūdų ir kuriant hibridines veisles, kurios yra atsparesnės sausroms, karščiui ir šalčiui bei, iš dalies, turi atsparumą AF ir FB [73]. Viename tyrime buvo užregistruotos veislės Tx736, Tx739 ir Tx740, kurios, atlikus tyrimus laukuose, turėjo 30-73 proc. mažesnę AF koncentracijos [75]. Kitame tyrime buvo tirtos 87 kukurūzų grūdų veislės iš Meksikos ir Kinijos, kuriose ieškota savybių, tinkančių auginimui bei atsparumui AF ir FB. Buvo išsiaiškinta, jog TUN15, TUN61, TUN37, CY2 ir TUN49 turėjo mažiausią AF koncentraciją, o TUN61 grūdų tipas parodė geriausią atsparumą abiem mikotoksinams [73].

1.14 Natūralių žolelių ir prieskonių poveikis kukurūzų mikrobiologinei taršai

Augalų produktai yra biologiškai skaidūs ir saugūs, ekonomiškai efektyvūs bei yra atsinaujinantis gamybos šaltinis, todėl puikiai tinka kaip būdas, kuriuo yra detoksikuojami AF [76]. Yra teigiama, jog keletas medicininių žolelių ir prieskonių turi savybių, kurios gali neutralizuoti kenksmingą poveikį žmonėms ir gyvūnams, chemiškai modifikuojant AF arba įterpiant į augalinę matricą. Keletas iš tokių rastų augalų yra *Citrus medica*, *Eucalyptus globolus*, *Allium sativum* ir *Olea europaea* [77]. Viename tyrime, naudojus *O. basilicum* lapų vandeninį ekstraktą, buvo nustatyta, jog jis detoksikavo AFB1 iki 86,9 proc. [76]. Kitame tyrime buvo nustatyta citrinos (*citrus limon*) įtaka AFB1 koncentracijai ir buvo išsiaiškinta, jog 2 proc. koncentracijos tirpalas redukavo mikotoksino micelių dauginimąsi 97,88 proc. [78]. Tirti kiniško cinamono (*cinnamomum cassia*) ir lauro lapų (*Laurus nobilis*) 5 proc. aliejiniai ekstraktai sumažino AFB1 ir aflatoksino G1 (AFG1) koncentracijas atitinkamai 97,92 ir 55,21 proc., tačiau stimuliavo *A. parasiticus* grybelio micelių augimą [79]. Taip pat buvo rasta, jog 20 proc. indinio nimbamedžio miltelių papildymas kukurūzų grūdų sandėliavime, slopino visų tipų grybelių augimą. Natūralios žolelės bei prieskoniniai su cukrumi, tokie kaip D-fruktozė ir D-gliukozė buvo nurodyti, kaip galintys mažinti FB koncentracijos didėjimą blokuodami pirmąją amino grupę mikotoksino struktūroje [16].

1.15 Kukurūzuose esančių aflatoksinų B1 kiekio nustatymo būdai

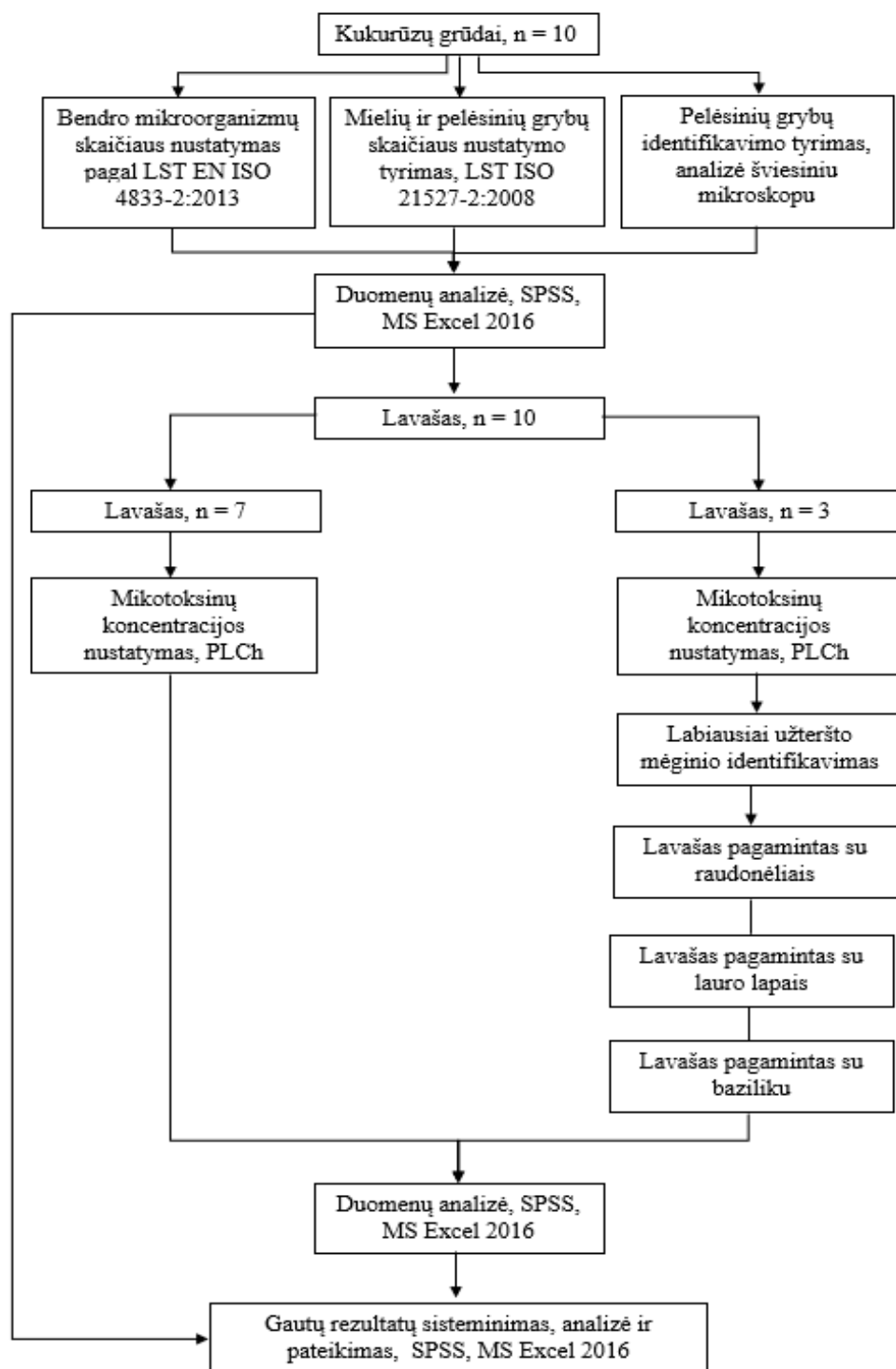
Kadangi mikotoksinais, tarp kurių ir AF, yra toksiškos medžiagos, jų nustatymas yra būtinas. Dėl to buvo sukurti nustatymo būdai, kurie vykdomi atliekant ekstrahavimą iš mėginio, gryninimą bei kokybinę ir kiekybinę analizę [62]. Šiuo metu AF koncentracijos nustatymui naudojamos didelio efektyvumo skysčių chromatografija (DESC) bei plonojo sluoksnio chromatografija, kurios užima daug laiko, mėginys yra sunaikinamas bei dėl nevienodo tiriamos medžiagos užterštumo galima gauti

ne visai tikslūs rezultatus. Plonojo sluoksnio chromatografija (PSC) yra vienas iš tradicinių būdų nustatant mikotoksinus ir tiriant specifiskai AF, yra paremtas purškiant trifluoracto ir sieros rūgšties ant PSC lėkštelės su mėginiais. AF yra fluorescenciniai junginiai ir, būtent dėl šių savybių, naudojant mėlyną fluorescenciją yra identifikuojamas AFB1. Šiuo būdu galima ištirti daug mėginių, mikotoksinai yra lengvai identifikuojami, procesas yra nebrangus [65]. Tarp chromatografinių analizės metodų, didelio efektyvumo skysčių chromatografija, kartu su fluorescencijos derivatizacija ir masės spektrometrija, yra patys populiariausi metodai, naudojami įvairių grūdinių kultūrų mikotoksinų koncentracijos nustatymui. Skysčių chromatografija – masės spektrometrija yra pranašesnė už kitus chromatografijos analizės būdus, kadangi turi žemas nustatymo ribas, selektyvią ir jautrią detekciją, minimalius reikalavimus mėginio paruošimui. Masės spektrometrija gali atskirti reikiamos masės fragmentus net iki keturių ar penkių dešimtųjų tikslumo, kai ankstesni prietaisai analizavo tik vienaženkliais masės vienetais [13].

2. TYRIMO METODAI IR MEDŽIAGA

2.1 Tyrimo objektas

Tyrimas buvo atliktas 2019-2020 metais. Tyrimui buvo surinkta 10 kukurūzų grūdų mėginių iš skirtingų žemės ūkio objektų. Tyrimas atliktas Lietuvos sveikatos mokslų universitete, Veterinarijos fakultete, Maisto ir saugos kokybės katedroje, Mikotoksikologijos laboratorijoje. Atlikto tiriamojo darbo schema pateikta 1 pav.



1 pav. Tiriamojo darbo schema

Kukurūzų lavašo mėginiai buvo gaminami paimant 200 g kukurūzų grūdų, su kavos malimo malūnėliu sumalant iki labai smulkios konsistencijos, įpilant 75 g vandens, išmaišant ir minkant gautą tešlą 2 min. Toliau gauta tešla yra padalinama į dvi lygias dalis ir formuojamas apvalus (maždaug 10 cm skersmens, 3 mm storio) blynas. Kepama orkaitėje 160°C temperatūroje 25 min.

Kukurūzų lavašų su raudonėliais, lauro lapais ir baziliku gamybos eiga buvo tokia pati kaip paprasto lavašo, tačiau prieš minkant tešlą yra įdedama po 10 g šių trijų priedų.

2.2 Mikroorganizmų nustatymas

2.2.1 Bendras mikroorganizmų skaičius

Bendras mikroorganizmų skaičius (BMS) nustatomas pagal LST EN ISO 4833-2:2013 (Maisto grandinės mikrobiologija. Bendrasis mikroorganizmų skaičiavimo metodas. 2 dalis. Kolonijų skaičiavimo 30°C temperatūroje sėjimo paviršiuje būdu). Kukurūzų grūdų ir lavašo mėginys sumalamas malūnėliu, atsveriamas 10 g maltų kukurūzų grūdų ir lavašų ir suberiama į atskiras kolbutes su 90 ml distiliuoto vandens. Siekiant išvengti kryžminės taršos, malūnėlis dezinfekuojamas, naudojamas antro malimo ėdalas. Kolbutės dedamos į kratyklę ir mėginiai maišomi 20min, iš jų sėta po 1ml mėginio į Petri lėkšteles, užpilant *Plaint count agar* (PCA) terpę. Kiekvienas mėginys sėtas į tris Petri lėkšteles. Mėginiui tolygiai paskirstyti, lėkštelės sukamos ratu prieš ir pagal laikrodžio rodyklę ant stalo po kelis kartus, laukiama kol terpė sustings. Inkubuojama 30 ± 1 °C temperatūroje 72 ± 3 valandas.

2.2.2 Mielių ir pelėsinų grybų nustatymas

Sumalama ir atsveriamas 10 g sauso kukurūzų grūdų ir lavašų mėginio, suberiama 90 ml distiliuoto vandens kolbutėse. Kolbutės kratyklėje maišomos 20 min, gauto mėginio 1 ml sterilia pipete patalpinama į Petri lėkštelę ir užpilama Sabūro terpe. Lėkštelės maišomos ant stalo sukamais judesiais prieš ir pagal laikrodžio rodyklę kelis kartus. Kiekvienam mėginiui skirtos trys Petri lėkštelės. Lėkštelės inkubuojamos kambario temperatūroje, 72 valandas. Pagal LST ISO 21527-2:2008 (Maisto ir pašarų mikrobiologija. Bendrasis mielių ir pelėsinų grybų skaičiavimo metodas. 2 dalis. Kolonijų skaičiavimo būdas produktuose, kurių vandens aktyvumas yra 0,95 arba mažesnis) įvertintos gyvybingų sporų skaičius, suskaičiuotos augančių pelėsinų grybų kolonijos.

2.2.3 Pelėsinų grybų identifikavimas iki genčių

Nustatant kukurūzų grūdų ir lavašo užkrėstumą pelėsiniais grybais tiesioginiu būdu, buvo sėjama po 10 kukurūzų grūdų ir lavašo gabaliukų iš kiekvieno mėginio. Grūdėliai paskirstyti Petri lėkštelėje ant sustingusios Sabūro terpės, dedant vieną grūdėlį viduryje ir 9 aplinkui ratu. Lėkštelės inkubuotos 4 paras kambario temperatūroje. Šviesiniu mikroskopu vertinamos užaugusios pelėsinų grybų kolonijos, pagal morfologinius požymius nustatytos gentys bei kai kurios rūšys. Apskaičiuota procentinė užkrėstų grūdelių dalis.

2.3 Mikotoksinų nustatymas

2.3.1 Aflatoksino B1, Zearalenono, deoksinivalenolio koncentracijos nustatymas

AFB1, ZEA, DON koncentracijos nustatomos naudojant plonasluoksnę chromatografiją (PLCh) pagal Romer LAB (JAV) metodikas. Mėginio paruošimui 25 g tiriamojo mėginio sumalama Romer Lab malūnu. 100 ml (84/16 ml) acetonitrilo/vandens mišinio maišoma dideliu greičiu 3 minutes ir perfiltruojama per popierinį filtrą. Išgryninama naudojant Multisep® 216 kolonėlę. Pritraukiant 10, 20, 40, 60, 80 µl DON standarto ir 80 µl tiriamo mėginio į specialius mikrošvirkštelių nustatoma koncentracija. DON standartas ir tiriamasis mėginys užnešami ant chromatografinės plokštelės. Plokštelė įmerkiamą į vonelę su ½ (10 ml/20 ml) toluolo/acetono mišiniu. Plokštelė apipurškiama 15 proc. aliuminio chloride metanolyje, išdžiovinama ore ir pakaitinama 5 min. ant plytelės, 150°C temperatūroje. DON koncentracija įvertinama UV spindulių fone (360 nm). Toksino koncentracija apskaičiuojama ppm (mg/kg). Tada į specialius mikrošvirkštelių pritraukiamą 10, 20, 40, 80 µl ZEA ir AFL B1 standartų ir 80 µl tiriamo mėginio. Ant silikagelio chromatografinės plokštelės užnešama 10, 20, 40, 80 µl ZEA bei AFL B1 standartų ir 80 µl tiriamo mėginio su specialiais mikrošvirkštais. Plokštelė įmerkiamą į 9/1 (18/2 ml) chloroformo/acetono mišinio vonelę. Laikoma, kol skystis pakyla iki 1 cm plokštelės viršaus. Po to plokštelė išdžiovinama ore. Įvertinama AFL B1 koncentracija. Plokštelė apipurškiama 15 proc. aliuminio chloridu metanolyje, išdžiovinama ore. ZEA koncentracija įvertinama UV spindulių fone. Toksino koncentracija apskaičiuojama ppm (mg/kg).

2.3.2 T-2 ir H-2 mikotoksino nustatymas

PLCh metodu tiriant T – 2 toksiną, mėginių paruošimas yra toks pat kaip AFB1, išgryninimui naudojamos MultiSep® 216 ir MycoSep® 227 valymo kolonėlės. 13 ml išvalyto ekstrakto išgarinta Romer® Evap sistema. Ektrakto nuosėdos ištirpintos 320 µl 97/3 tolueno/acetonitrilo mišinyje. Į specialius mikrošvirkštus pritraukus 10, 20, 40, 80 µl T-2 toksino standartų (100 µg/ml acetonitrilo) ir 80 µl tiriamo mėginio, PLCh autospoteriu (autospotter) užnešamas standartas ir tiriamasis mėginys ant silicio gelio chromatografinės plokštelės 60°C temperatūroje. Rezultatų išryškinimui T-2 toksino plokštelė įmerkiamą į 25/15/1 metanolio/vandens/acto rūgšties mišinį. T-2 toksino plokštelė apipurškiama 10 proc. sieros rūgšties metanoliu, išdžiovinama ore. Toksino koncentracija įvertinama pakaitinus plokštelę 150°C temperatūroje 5 min. ultravioletinių spindulių (UV) fone (360 nm). DON ir T-2 švyti mėlynai, kai $R_f \approx 0,5$. Toksino koncentracija tiriamajame mėginyje matomas ng ir apskaičiuojama ppb (µg/kg). T-2 toksino aptikimo riba – 10 ppb.

2.3.3 Ochratoksino A nustatymas

OTA kiekybiniam nustatymui taip pat naudojamas PLCh analizės modifikuotas metodas pagal Romer Labs metodiką. 25 g tiriamojo mėginio sumalama malūnu, ekstrahuojama pilant 100 ml 84/16 acetonitrilo/vandens mišinio, 30 min. purtoma su purtykle, perfiltruojama popieriniu filtru. 7 ml

ekstrakto perkeliama į mėgintuvėlį, užpilama 70 µl acto rūgšties ir gerai išmaišoma. Ekstraktas perleidžiamas per MycoSep®229 Ochra kolonėlę. Surenkama 4 ml išvalyto ekstrakto ir perkeliama į švarų mėgintuvėlį. Surinktas ekstraktas išgarinamas naudojant Romer® Evap sistemą. Gautas nuosėdos ištirpinamos 400 µl 99/1 tolueno/acto rūgšties mišinyje. Koncentracijos nustatymas: mikrošvirkštais pritraukiama 100 µl tiriamo mėginio ir 10, 30, 50 µl 1 µl/ml OTA darbinio standarto ir užnešama ant silicio gelio chromatografinės plokštelės. Plokštelė įmerkiamą į vonelę su 18/1/1 tolueno/metanolio/acto rūgšties mišiniu, po to plokštelė išdžiovinama ore. OTA koncentracija vertinama UV spinduliuotės fone, esant ilgiausiai bangai. OTA švyti mėlynai žalia spalva, kai $R_f = 0,6$. Aptikimo riba: 1 µg/kg.

2.4 Statistinė analizė

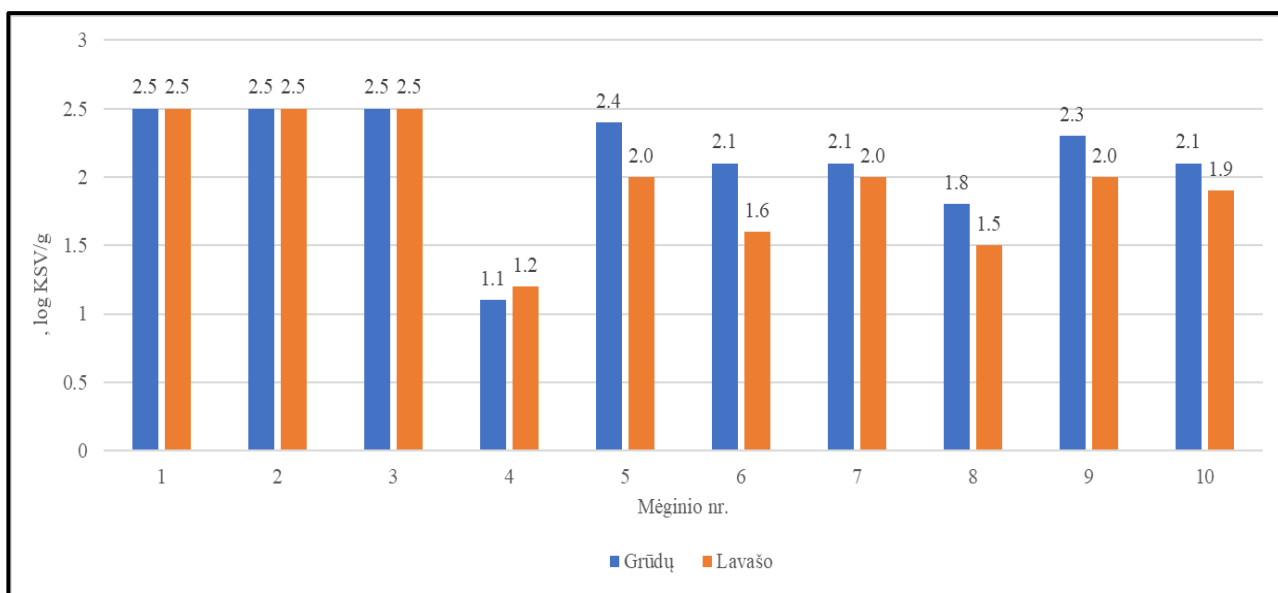
Statistiškai duomenys buvo apdoroti naudojantis 23.0 versijos „IBM SPSS Statistics“ programa. Analizuojant ir apdorojant duomenis SPSS buvo apskaičiuoti duomenų vidurkiai ir jų standartiniai nuokrypiai, minimalios ir maksimalios reikšmės bei naudojantis „Stjudento“ statistinės analizės metodu buvo apskaičiuota aritmetinių vidurkių skirtumo patikimumas. Jeigu kintamųjų vidurkių skirtumas yra reikšmingas, jis turi būti mažesnis negu 0,05 ($p < 0,05$), priešingu atveju, skaitoma, skirtumas nėra reikšmingas ($p > 0,05$). Paveikslėliai ir diagramos buvo pavaizduotos naudojantis „Microsoft 365“ paketo MS „Excel“ programa, išleista 2016 metais.

3. TYRIMO REZULTATAI

3.1 Kukurūzų grūdų ir lavašų užterštumas mikroorganizmais

3.1.1 Bendras mikroorganizmų sudarančių kolonijas skaičius

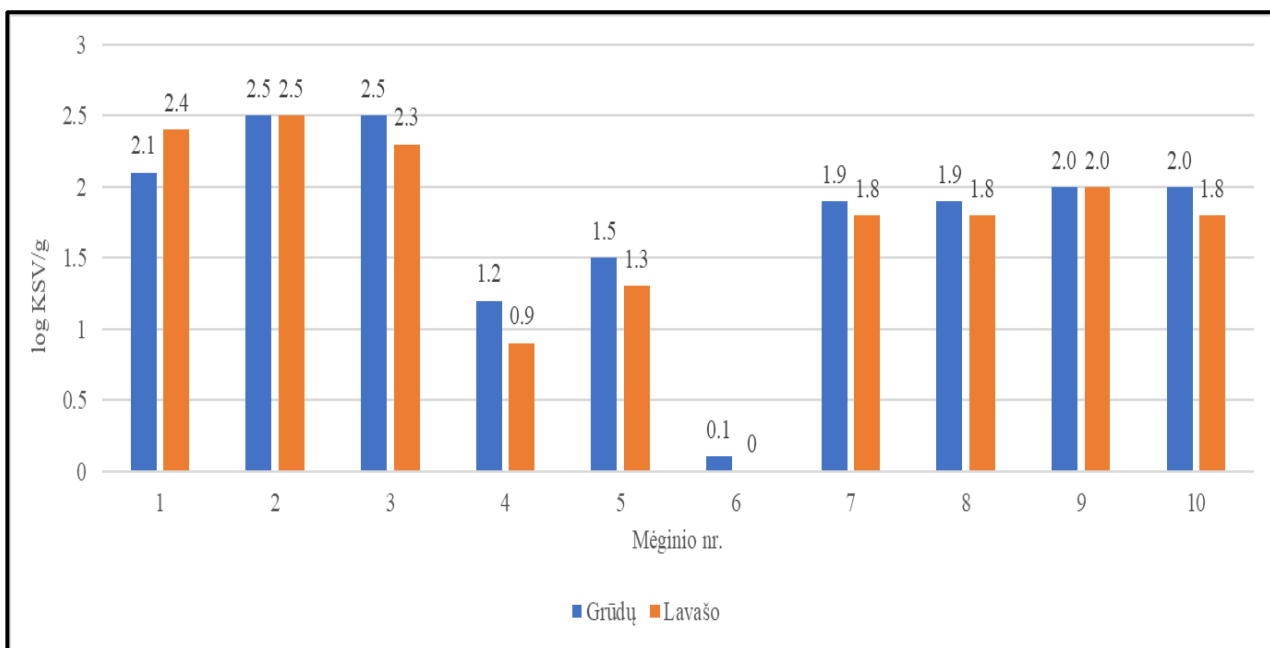
Bendras bakterijų sudarančių kolonijas skaičius yra pavaizduotas 1 pav. Atlikus tyrimus buvo nustatyta, jog kukurūzų grūduose bendras mikroorganizmų kiekis svyravo tarp 1,1 ir 2,5 log KSV/g, o vidutinė reikšmė buvo $2,17 \pm 0,19$ log KSV/g. Kukurūzų lavašuose bendras bakterijų kiekis svyravo tarp 1,2 ir 2,5 log KSV/g, o vidutinė reikšmė buvo mažesnė, negu kukurūzų grūduose ir siekė $2,04 \pm 0,19$ log KSV/g ($p > 0,05$).



2 pav. Kukurūzų grūduose ir lavaše esantis bendras bakterijų kiekis

3.1.2 Bendras mielių ir pelėsinų grybų skaičius

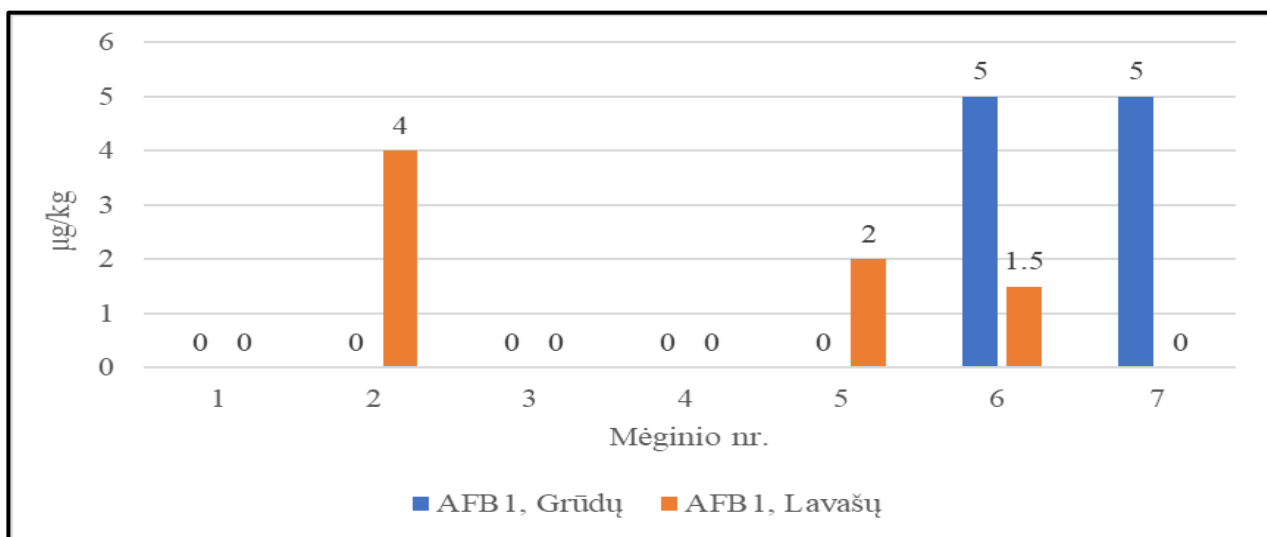
Bendras mielių ir pelėsinų grybų skaičius yra pavaizduotas 2 pav. Atlikus tyrimus buvo nustatyta, jog kukurūzų grūduose mielių ir pelėsinų grybų skaičius svyravo nuo 0,1 iki 2,5 log KSV/g, o vidutinė reikšmė buvo $1,7 \pm 0,32$ log KSV/g. Po kepimo, kukurūzų lavaše, mielių ir pelėsinų grybų skaičius svyravo tarp 0 ir 2,5 log KSV/g, o vidutinė reikšmė buvo mažesnė, nei kukurūzų grūduose ir siekė $1,6 \pm 0,35$ log KSV/g ($p > 0,05$).



3 pav. Kukurūzų grūduose ir lavaše esančių mielių ir pelėsinių grybų skaičius

3.2 Mikotoksinų nustatymo rezultatai

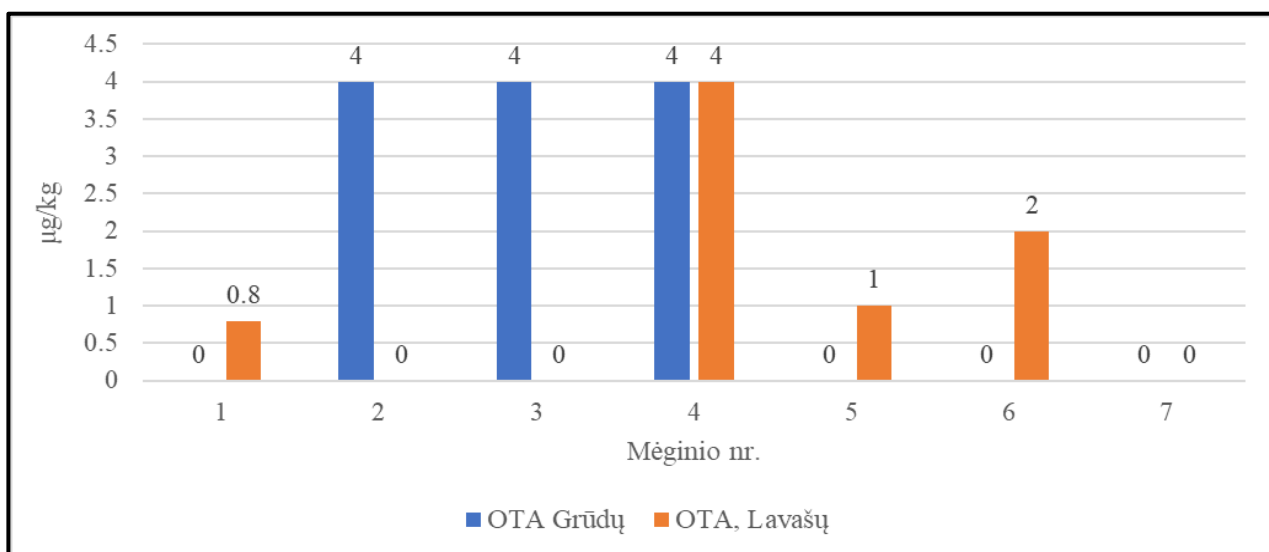
AFB1 koncentracija yra pavaizduota 3 pav. Tirtuose kukurūzų grūdų mėginiuose buvo nustatyta, jog AFB1 užteršta 28,6 proc. mėginių, kurių vidutinė nustatyta koncentracija buvo $1,43 \pm 0,92 \mu\text{g/kg}$ ir svyravo nuo 0 iki $5 \mu\text{g/kg}$. Palyginus, po kepimo, lavašuose, buvo rasta didesnė dalis mėginių su AFB1 tarša, kuri siekė 42,9 proc., vidutinė koncentracija buvo mažesnė nei grūduose – $1,07 \pm 0,58 \mu\text{g/kg}$ ir užterštumas svyravo nuo 0 iki $4 \mu\text{g/kg}$ ($p > 0,05$).



4 pav. Aflatoksino B1 koncentracija kukurūzų grūduose ir lavašuose

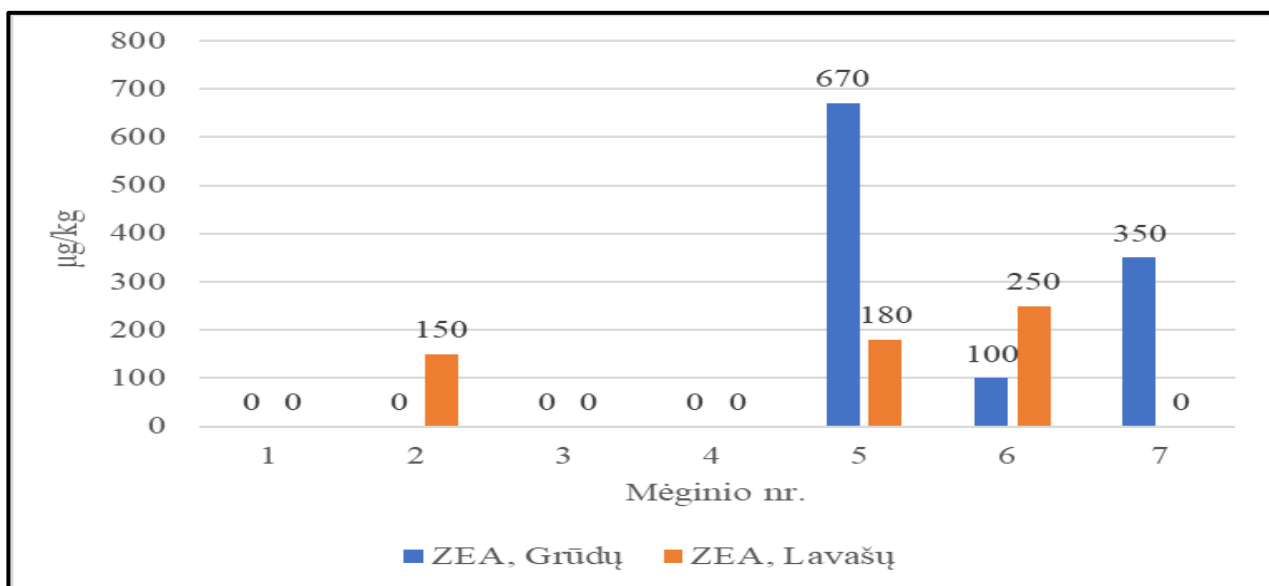
OTA koncentracija mėginiuose yra pavaizduota 4 pav. OTA kukurūzų grūduose rasta 42,9 proc. iš visų tirtų mėginių ir vidutinis užterštumo kiekis buvo $1,71 \pm 0,81 \mu\text{g/kg}$. Palyginus, iškeptuose lavašų mėginiuose, užterštumas šiuo mikotoksinų išaugo ir buvo nustatytas 57,1 proc. tirtų mėginių,

tačiau vidutinis užterštumas sumažėjo ir siekė $1,11 \pm 0,56 \mu\text{g/kg}$, o koncentracija svyravo tarp 0,8 ir $4 \mu\text{g/kg}$ ($p > 0,05$).



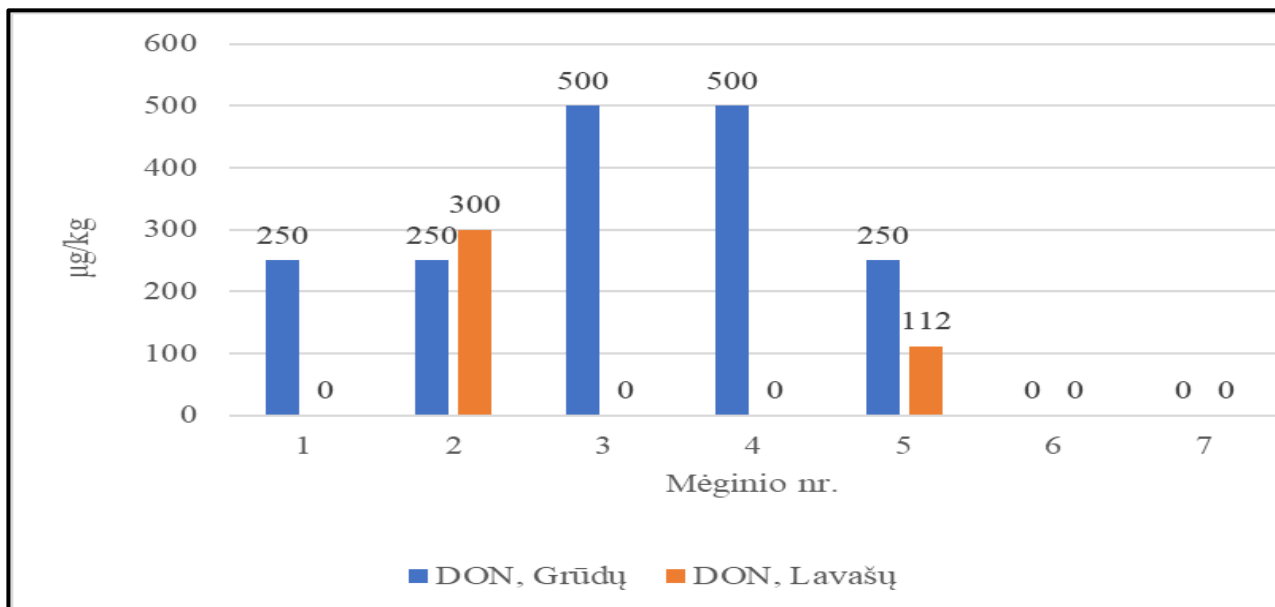
5 pav. Ochratoksino A koncentracija kukurūzų grūduose ir lavašuose

ZEA koncentracija mėginiuose yra pavaizduota 6 pav. Tyrimo metu buvo ištirta ir nustatyta, jog ZEA mikotoksinas kukurūzų grūduose buvo rastas 42,9 proc. visų tirtų mėginių ir jo koncentracija svyravo tarp 0 ir $670 \mu\text{g/kg}$, o vidutinis užterštumas buvo $160 \pm 97,85 \mu\text{g/kg}$. Iškeptuose lavašuose ZEA mikotoksino užterštumas nepakito ir išliko 42,9 proc. visų mėginių, jų koncentracija svyravo tarp 0 ir $250 \mu\text{g/kg}$, o vidurkis buvo mažesnis nei kukurūzų grūduose ir siekė $82,86 \pm 40,63 \mu\text{g/kg}$ ($p > 0,05$).



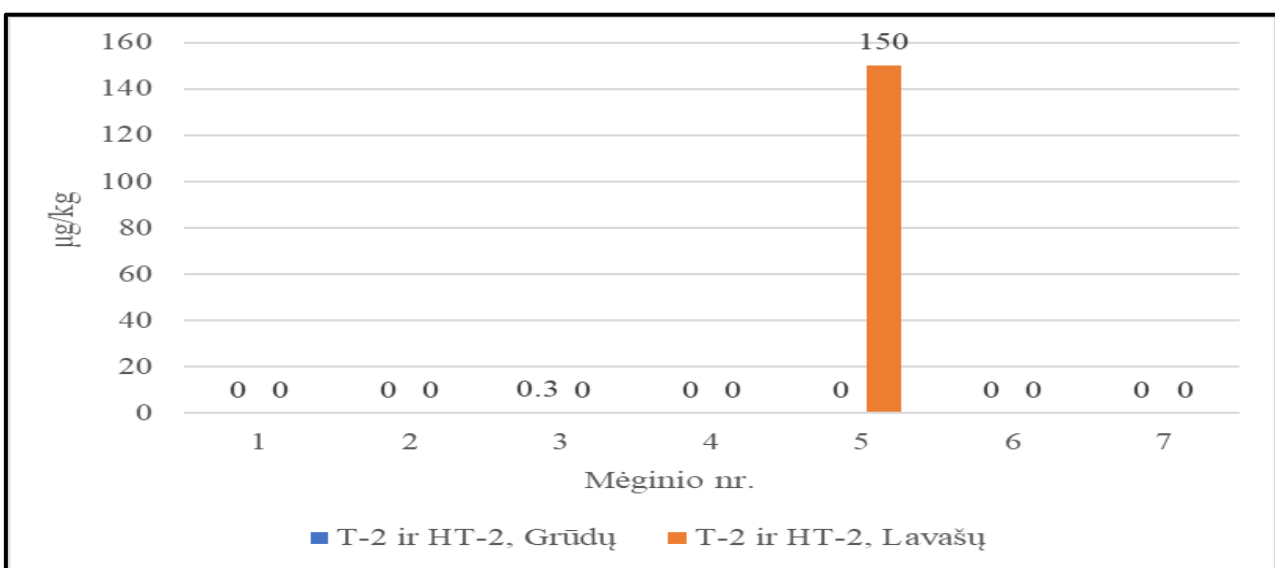
6 pav. Zeaealeono koncentracija kukurūzų grūduose ir lavašuose

DON koncentracija mėginiuose yra pavaizduota 6 pav. DON koncentracija kukurūzų grūduose buvo nustatyta 71,4 proc. visų tirtų mėginių ir svyravo nuo 0 iki 500 µg/kg, o vidurkis siekė $250 \pm 77,15$ µg/kg. Keptuose lavašuose užterštumas sumažėjo ir buvo aptiktas tik 28,6 proc. visų mėginių. Lavašuose koncentracija svyravo tarp 0 ir 300 µg/kg, užterštumo vidurkis taip pat sumažėjo ir siekė $58,86 \pm 43,17$ µg/kg ($p > 0,05$).



7 pav. Deoksinivalenolio koncentracija kukurūzų grūduose ir lavašuose

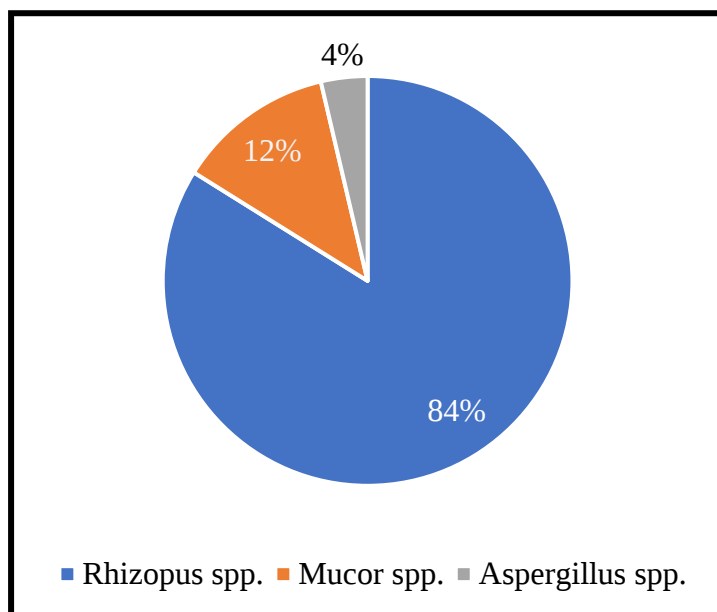
Toksinų T-2 ir HT-2 koncentracija mėginiuose yra pavaizduota 7 pav. T-2 ir HT-2 koncentracija kukurūzų grūduose buvo nustatyta 14,3 proc. mėginių ir svyravo nuo 0 iki 0,3 µg/kg, vidurkis siekė $0,04 \pm 0,04$ µg/kg. Keptuose kukurūzų lavašuose užterštumas nustatytas 14,3 proc. visų tirtų mėginių ir tarša svyravo nuo 0 iki 150 µg/kg, o šių mikotoksinų lavaše vidutinė koncentracija buvo $21,43 \pm 21,43$ µg/kg ($p > 0,05$).



8 pav. Toksinų T-2 ir HT-2 koncentracija kukurūzų grūduose ir lavašuose

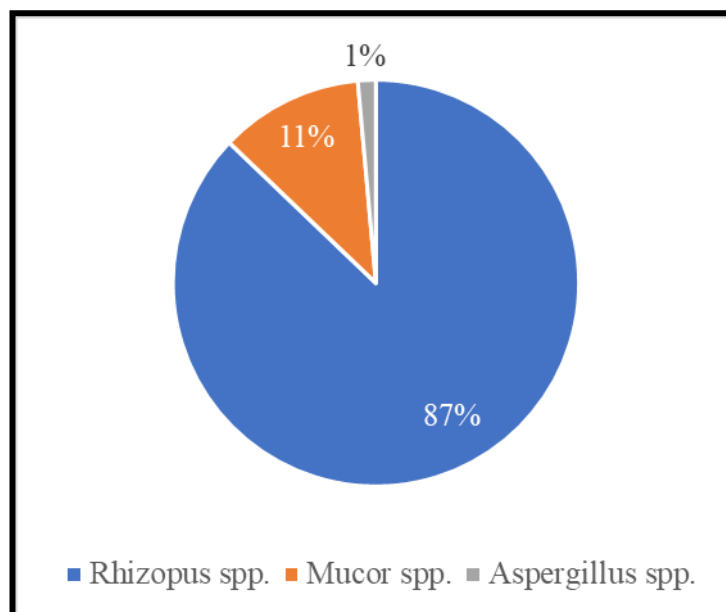
3.3 Pelėsinų grybų identifikavimo tyrimo rezultatai

Kukurūzų grūduose esančių pelėsinų grybų identifikavimo rezultatai pateikti 8 Pav. Kukurūzų grūdų mėginiuose *Rhizopus spp.* buvo aptikta visuose 100 proc. mėginių, o vidutinė reikšmė buvo lygi $83,57 \pm 6,14$ proc. Mažiausias procentinis kiekis buvo 55 proc., o didžiausias – 100 proc. *Mucor spp.* pelėsinis grybas buvo aptiktas 85,71 proc. visų tirtų mėginių, mažiausias procentinis kiekis buvo 0 proc., o didžiausias siekė 30 proc, vidurkis – $12,14 \pm 3,91$ proc. *Aspergillus spp.* pelėsinio grybo buvo aptikta 28,57 proc. visų tirtų mėginių, mažiausias kiekis buvo 0 proc., o didžiausias siekė 25 proc. Vidutinė procentinė dalis buvo lygi $4,29 \pm 3,52$ proc.



9 pav. Kukurūzų grūduose identifikuotų pelėsinų grybų procentinė dalis

Pelėsinų grybų kukurūzų lavašuose identifikavimo procentinio dalis yra pateikta 9 pav. Lavašuose *Rhizopus spp.* pelėsinio grybo buvo aptikta visuose 100 proc. mėginių, o vidutinė reikšmė siekė $87 \pm 3,76$ proc. Mažiausias procentinis kiekis buvo nustatytas 70 proc., o didžiausias – 100 proc. *Mucor spp.* pelėsinio grybo buvo aptikta 85,71 proc, visų tirtų mėginių, o mažiausias aptiktas kiekis buvo lygus 0 proc, didžiausias – 20 proc. Vidutinė reikšmė siekė $11,43 \pm 2,83$ proc. *Aspergillus spp.* lavašuose esanti procentinio dalis visuose mėginiuose buvo 14,29 proc., vidutinė reikšmė siekė $1,43 \pm 1,43$ proc., mažiausia nustatyta procentinė dalis buvo lygi 0 proc., o didžiausia 10 proc. ($p > 0,05$).

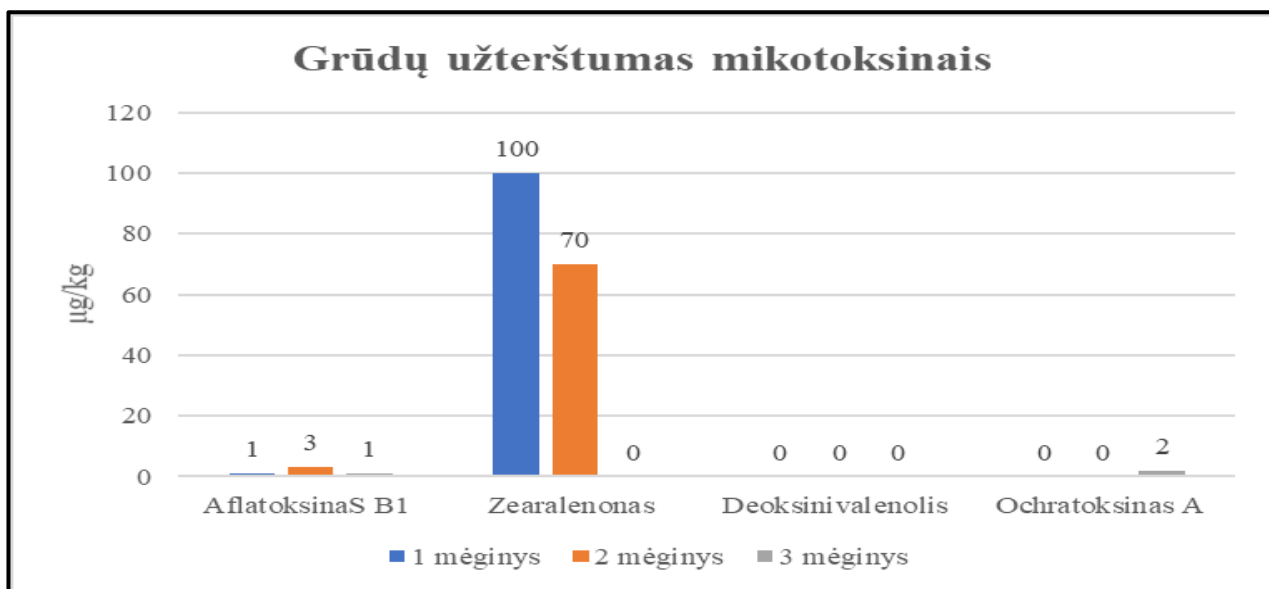


10 pav. Lavašuose identifikuotų pelėsinių grybų procentinė dalis

Lyginant kukurūzų grūduose ir lavašuose esančią procentalią *Rhizopus spp.* dalį, ir grūduose ir lavašuose 100 proc. mėginių aptikta šio pelėsinio grybo, tačiau vidutinė procentinė dalis lavašuose buvo didesnė, nei nustatyta kukurūzų grūduose ($87 \pm 3,76$ proc. ir $83,57 \pm 6,14$ proc. atitinkamai). *Mucor spp.* ir kukurūzų grūduose ir lavaše buvo nustatyta 85,71 proc. visų mėginių, tačiau vidutinė procentinė dalis grūduose buvo didesnė, nei lavašuose ($12,14 \pm 3,91$ proc. ir $11,43 \pm 2,83$ proc. atitinkamai). Lyginant *Aspergillus spp.* pelėsinio grybo procentalią dalį kukurūzų grūduose ir lavaše buvo nustatyta, jog po kepimo, lavašuose, vidutinė procentinė dalis buvo mažesnė, negu nustatytoji kukurūzų grūduose ($1,43 \pm 1,43$ proc. ir $4,29 \pm 3,52$ proc. atitinkamai) ($p > 0,05$).

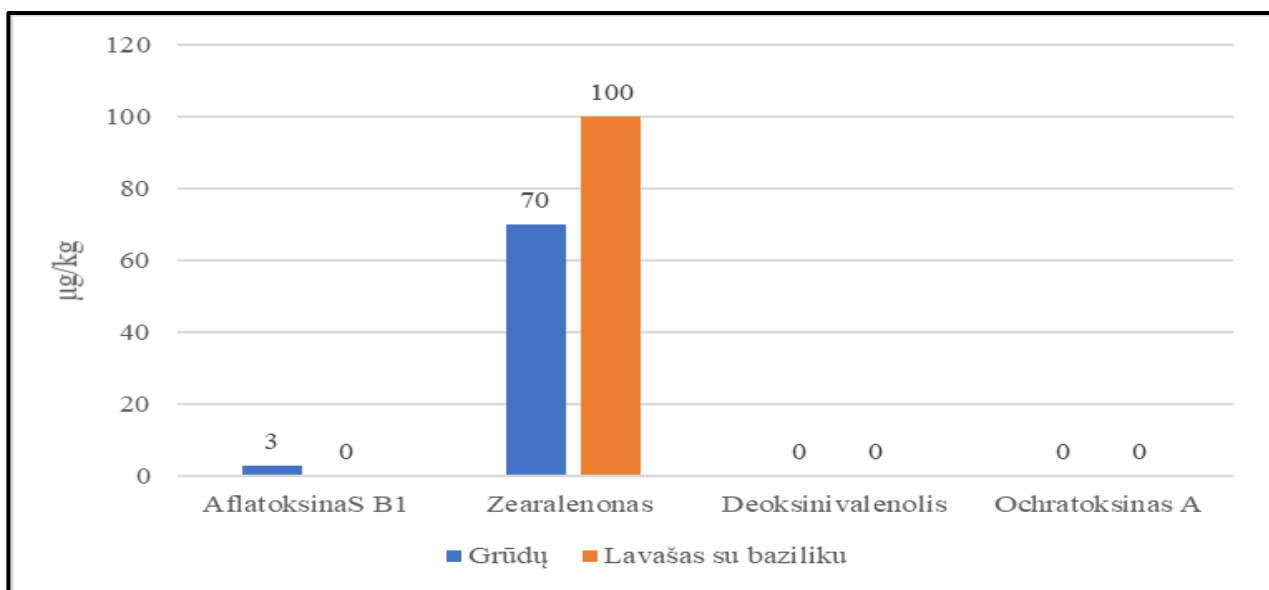
3.4 Kukurūzų grūduose ir lavaše, keptame su bazilikais, lauro lapais ir raudonėliais, taršos mikotoksinais palyginimas

Grūdų užterštumas pavaizduotas 11 pav. Atlikus tyrimus ir atsižvelgus, kad prioritetu laikoma AFB1 redukcija, tolimesniems tyrimams buvo pasirinktas mėginys nr. 2, kuriame nustatyta didžiausia šio mikotoksino koncentracija ($3 \mu\text{g/kg}$). Didžiausia ZEA koncentracija nustatyta mėginyje nr. 1 ($100 \mu\text{g/kg}$). Deoksinivalenolis tirtuose mėginiuose nenustatytas, o OTA mikotoksinas buvo rastas tik mėginyje nr. 3, kuriame koncentracija siekė $2 \mu\text{g/kg}$.



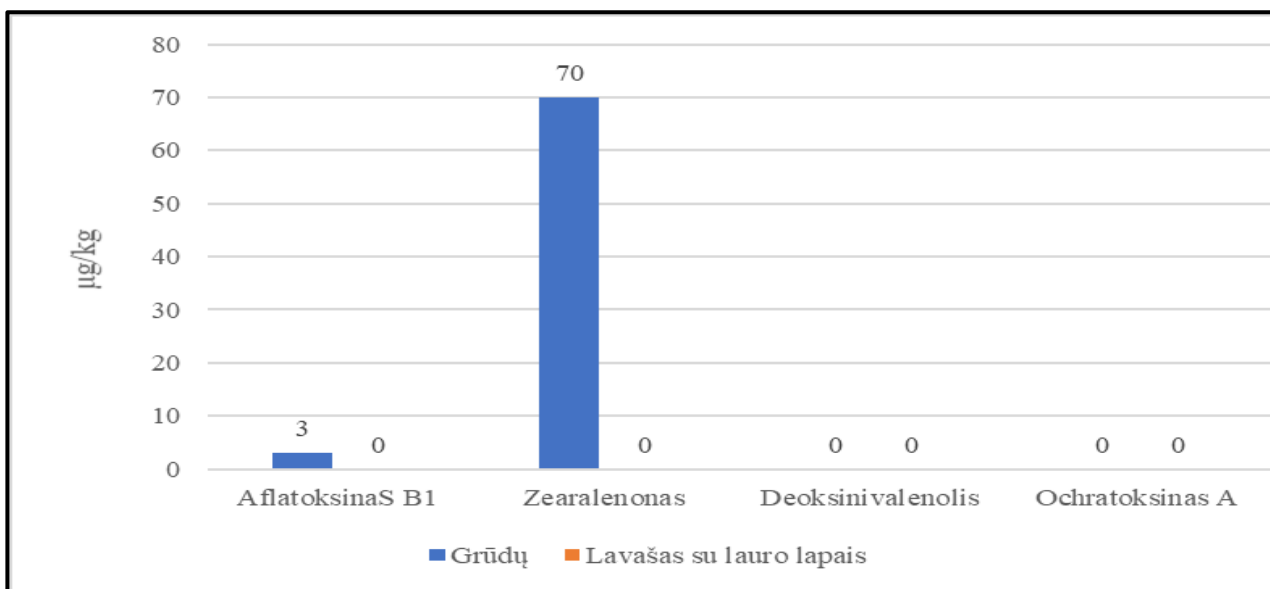
11 pav. Grūduose nustatytos mikotoksinių koncentracijos

Kukurūzų grūdų ir lavašo, pagaminto su baziliku (*Ocimum basilicum*), koncentracija pavaizduota 12 pav. AFB1 koncentracija sumažėjo 100 proc. (nuo 3 iki 0 µg/kg), tačiau ZEA mikotoksino koncentracija padidėjo 42,86 proc. (nuo 70 iki 100 µg/kg). DON ir OTA koncentracijos buvo neužfiksuotos.



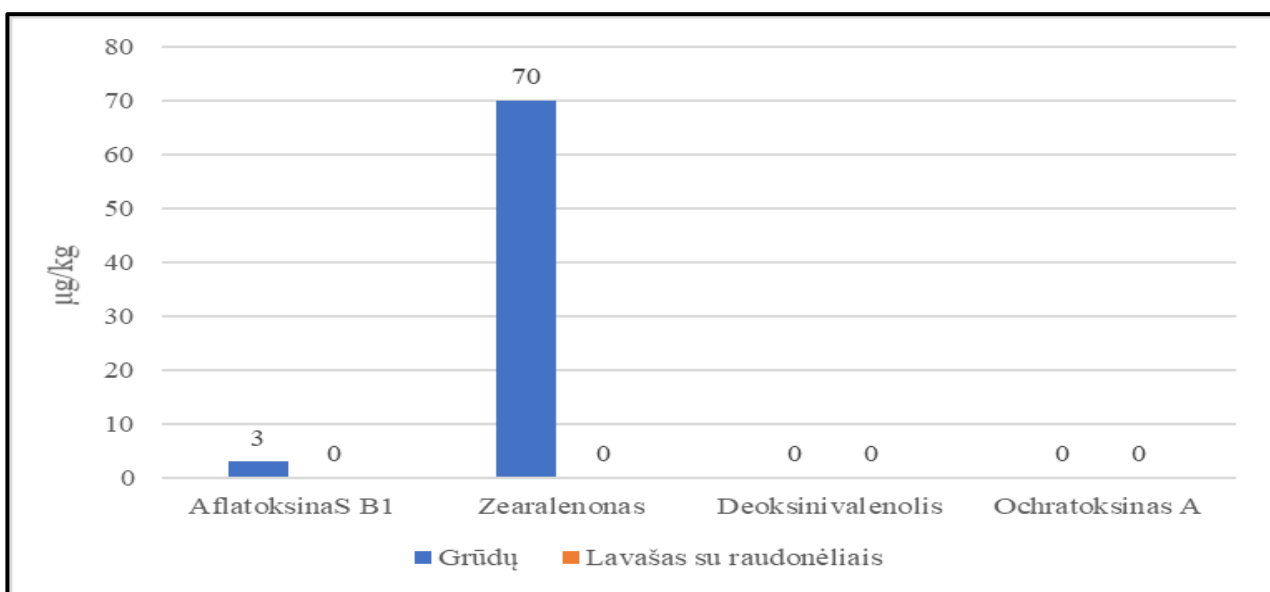
12 pav. Kukurūzų grūdų ir lavašo su baziliku mikotoksinių koncentracijos palyginimas

Kukurūzų grūdų ir lavašo, pagaminto su lauro lapais (*Laurus nobilis*), koncentracija pavaizduota 13 pav. AFB1 ir ZEA koncentracija buvo sumažinta 100 proc. (nuo 3 iki 0 µg/kg ir nuo 70 iki 0 µg/kg atitinkamai). DON ir OTA mikotoksinių koncentracija nebuvo nustatyta.



13 pav. Kukurūzų grūdų ir lavašo su lauro lapais mikotoksinių koncentracijos palyginimas

Kukurūzų grūdų ir lavašo, pagaminto su raudonėliu (*Origanum vulgare*), koncentracija pavaizduota 14 pav. AFB1 ir ZEA užterštumas buvo sumažintas 100 proc. (Nuo 3 iki 0 ir nuo 70 iki 0 µg/kg). DON ir OTA koncentracija nebuvo nustatyta.



14 pav. Kukurūzų grūdų ir lavašo su raudonėliais mikotoksinių koncentracijos palyginimas

REZULTATŲ APTARIMAS

Kad būtų gaunamas kokybiškas ir saugus produktas, jis turi atitikti Europos Sąjungos numatytus reikalavimus ir, remiantis 2006 m. gruodžio 19 d. Komisijos reglamentu (EB) Nr. 1881/2006, nustatančiu didžiausias leistinas tam tikrų teršalų maisto produktuose koncentracijas, yra kontroliuojama ir kukurūzų bei kukurūzų produktų tarša. Remiantis Komisijos reglamentu (EB) Nr. 1881/2006 AFB1 leistina didžiausia koncentracija yra 5 µg/kg, tirtuose mėginiuose nei vienas iš jų neviršijo leistinos ribos, tačiau 6 ir 7 mėginiai buvo pasiekę maksimalią leidžiamą normą (po 5 µg/kg atitinkamai). OTA didžiausia leistina koncentracija taip pat yra 5 µg/kg, tirtuose mėginiuose visi septyni mėginiai neviršijo leistinos ribos ir nustatytos koncentracijos siekė nuo 0 µg/kg iki 4 µg/kg. ZEA didžiausia leistina koncentracija yra 200 µg/kg, tirtuose mėginiuose buvo nustatyta, jog 28,6 proc. kukurūzų grūdų mėginių viršijo leidžiamą didžiausią koncentraciją ir šie kukurūzai yra netinkami naudojimui. Kiti mėginiai atitiko normas ir užterštumas juose svyravo tarp 0 µg/kg ir 180 µg/kg. DON didžiausia numatyta leistina koncentracija yra 750 µg/kg. Visuose tirtuose mėginiuose nebuvo nustatyta nei vieno, kuris viršytų leistiną koncentraciją, grūduose ir lavašuose koncentracija svyravo nuo 0 µg/kg iki 500 µg/kg [81].

Bendrasis bakterijų kiekis pagal G. Juodeikienę, bei kt. [82] gali būti sumažintas 1-4 log ciklais maiste ir žolelėse, priklausomai nuo naudojamos temperatūros ir kaitinimo laiko, o pačios šilumos efektyvumas stabdant sporų augimą labai priklauso ir nuo aplinkos drėgmės kaitinimo metu. Šiame darbe atliktuose tyrimuose bendras mikroorganizmų skaičius buvo sumažintas 42,86 proc. mėginių ir didžiausia pasiekta redukcija lyginant kukurūzų grūdus ir termiškai apdorotą lavašą buvo pasiekta 6-tame mėginyje, kuriame nustatytas 0,5 log sumažėjimas (nuo 2,1 iki 1,6 log KSV/g atitinkamai).

G. Juodeikienės bei kt. [82], 2018 metais atliktame tyrime buvo nustatyta, jog pelėsių skaičių galima sumažinti 3 log ciklais, kai terminis apdorojimas yra atliekamas aukštoje drėgmėje (85 proc.), o kaitinimas žemoje drėgmėje buvo ne toks efektyvus ir nepasiekė norimos redukcijos. Šiame darbe atliktuose tyrimuose mielių ir pelėsių bendras skaičius buvo sumažintas 71,42 proc. mėginių, tačiau didžiausias sumažėjimas, lyginant kukurūzų grūdus ir iškeptus lavašus, buvo nustatytas 4-tame mėginyje ir siekė tik 0,3 log (nuo 1,2 iki 0,9 log KSV/g atitinkamai).

Didelė dalis mikotoksinų yra atsparūs terminiams apdorojimo būdams, kaip pavyzdį imant AFB1 mikotoksina, jo skilimo temperatūra gali būti net 280°C, o kiti mikotoksina taip pat gali turėti aukštas skilimo temperatūras [39]. Taip pat mikotoksinų degradaciją gali skatinti ir daugiau faktorių, tokių kaip pridėtinės medžiagos, pH lygis, slėgis ir šlyties jėgos, kurios veikia ne tik mikotoksinų skaidymą, tačiau gali daryti įtakos ir galimiems šių junginių virsmo bei prisijungimo procesams [83]. S. Schaarschmidt ir C. Fauhl-Hassek 2021 metais atliktame tyrime buvo nurodyta, jog kepatų kukurūzų duoną buvo gautas AF koncentracijos sumažėjimas nuo 15 iki 50 proc., tačiau konkrečiai

B grupės aflatoksinų vidutinė redukcija buvo nedidelė ir siekė tik apie 15 proc. [83]. S. Gbashi, bei kt. [84] 2019 metais atliko tyrimą, kuriame kukurūzų matricoje buvo termiškai apdorojami kukurūzų miltai papildyti AFB1, OTA, ZEA, ir buvo gauta, jog apdorojant miltus 200°C 15 min., koncentracija sumažėjo $92,86 \pm 0,53$, $38,79 \pm 1,32$, $84,37 \pm 1,85$ proc. atitinkamai. Mūsų atliktuose tyrimuose, kukurūzų lavašą apdorojus 160°C 25 min, AFB1, OTA ir ZEA vidutinės koncentracijos buvo sumažintos 25,16, 35,09, 48,21, 48,21 proc. atitinkamai.

Produktai pagaminti iš augalų domina mokslininkus dėl to, jog tai yra saugesnis bei, galimai, efektyvesnis pakaitalas sintetiniams antimikrobinėms medžiagoms ir gali suteikti alternatyvių būdų kaip išvengti maisto arba pašarų užteršimo mikotoksinais. Taip pat mikrobiologų dėmesį atkreipė ir plataus masto augalinių produktų naudojimas, kurie taip pat yra ir biologiškai skaidūs, saugūs, ekonomiškai, atsinaujinančio pobūdžio bei jau buvo naudojami kaip ekologiška priemonė mikotoksinais detoksikuoti [76]. W. Iram bei kt. [76] 2016 metais atliktame tyrime naudojo iš *Ocimum basilicum* lapų pagamintą vandeninį ekstraktą, kuris 25°C temperatūroje aflatoksinogeninių izoliatų gamyba buvo sumažino 54,41 proc., o laikant 72h koncentracija sumažinta dar labiau ir siekė 76,78 proc. Mūsų atliktame tyrime buvo nustatyta, jog kukurūzų lavašą papildžius baziliku (*Ocimum basilicum*) bei termiškai apdorojus 160°C, AFB1 koncentracija buvo sumažinta nuo $1,67 \pm 0,67$ iki $0,5 \pm 0,5$ µg/kg. Taip pat buvo pastebėtas ir OTA mikotoksino koncentracijos sumažėjimas (nuo grūduose esančios $0,67 \pm 0,67$ iki $0,4 \pm 0,31$ µg/kg lavaše), tačiau ZEA ir DON koncentracijos išaugo (nuo $56,67 \pm 29,63$ iki $110 \pm 58,20$ µg/kg ir nuo 0 iki 120 ± 120 µg/kg atitinkamai). O.O Atanda bei kt. [79] tyrime nustatė, jog lauro lapų aliejiniai tirpalai sumažino AFB1 ir AFG1 mikotoksinų koncentracijas 97,92 ir 55,21 proc. atitinkamai, tačiau stimulavo grybelio micelinį augimą. Mūsų atliktame tyrime AFB1 buvo sumažintas 100 proc., taip pat buvo pasiekta ir 100 proc. ZEA mikotoksino koncentracijos redukcija. Raudonėlių įtaką kukurūzų grūdams tyrė H. Renata Esper ir atliktame tyrime pagaminus eterinį aliejų su šia žolele bei naudojant 100 µL koncentracijos tirpalą, buvo nustatyta, jog AFB1 koncentracija buvo sumažinta 86,68 proc. [85]. Mūsų atliktame tyrime tarša AFB1 mikotoksinu buvo sumažinta 100 proc., taip pat pasiekta ir 100 proc. ZEA mikotoksino redukcija. Informacijos apie natūralių žolelių ir prieskonių savybes mažinti įvairius mikotoksinius yra daug, o tai parodo didelį mokslininkų susidomėjimą galimybėmis apdoroti įvairius kukurūzų produktus, norint gerinti iš jų pagamintų maisto produktų saugą, juslines savybes.

IŠVADOS

1. Įvertinus kukurūzų grūdų taršą buvo nustatyta, jog vidutinis bendras mikroorganizmų skaičius buvo $2,17 \pm 0,19 \log \text{ KSV/g}$, pelėsinių grybų ir mielių skaičius - $1,7 \pm 0,32 \log \text{ KSV/g}$. Užterštumas mikotoksinais AFB1, OTA, ZEA, DON, T-2 ir H-2 siekė $1,43 \pm 0,92$, $1,71 \pm 0,81$, $160 \pm 97,85$, $250 \pm 77,15$, $0,04 \pm 0,04 \mu\text{g/kg}$ atitinkamai. Identifikavus pelėsinius grybus nustatytos *Rhizopus spp.*, *Mucor spp.*, *Aspergillus spp.* gentys;
2. Įvertinus lavašo taršą buvo nustatyta, jog vidutinis bendras mikroorganizmų skaičius siekė $2,04 \pm 0,19 \log \text{ KSV/g}$, pelėsinių grybų ir mielių skaičius buvo $1,6 \pm 0,35 \log \text{ KSV/g}$. Užterštumas mikotoksinais AFB1, OTA, ZEA, DON, T-2 ir H-2 siekė $1,07 \pm 0,58$, $1,11 \pm 0,56$, $82,86 \pm 40,63$, $58,86 \pm 43,17$, $21,43 \pm 21,43 \mu\text{g/kg}$ atitinkamai. Identifikavus pelėsinius grybus nustatytos *Rhizopus spp.*, *Mucor spp.*, *Aspergillus spp.* gentys;
 - 2.1 Lavašuose, lyginant su kukurūzų grūdais, 6 proc. sumažėjo bendras mikroorganizmų skaičius ir 5,88 proc. pelėsinių grybų bei mielių skaičius. AFB1 koncentracija sumažėjo 25,16, OTA – 35,09, ZEA – 48,21, DON – 76,46 proc., tačiau T-2 ir H-2 mikotoksinų tarša išaugo nuo $0,04 \pm 0,04$ iki $21,43 \pm 21,43 \mu\text{g/kg}$), $p > 0,05$;
 - 2.2 Kukurūzų grūduose ir lavašuose buvo rasta *Rhizopus spp.*, *Mucor spp.*, *Aspergillus spp.* genčių pelėsiniai grybai. *Rhizopus spp.* ir *Aspergillus spp.* lavašuose, lyginant su kukurūzų grūdais, sumažėjo 3,94 ir 66,67 proc. atitinkamai, o *Mucor spp.* išaugo 6,21 proc., $p > 0,05$;
- 3 Lavašuose pagamintuose su baziliku, raudonėliu ir lauro lapais AFB1 koncentracija buvo sumažinta 100 proc. ZEA koncentracija 100 proc. sumažinta mėginiuose su lauro lapais ir raudonėliais, tačiau padidėjo 42,86 proc.. mėginyje, pagamintame su baziliku. DON ir OTA koncentracijos nebuvo nustatytos.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Bullerman, Lloyd B., and Andreia Bianchini. 'Stability of Mycotoxins during Food Processing'. *International Journal of Food Microbiology* 119, no. 1 (2007): 140–46;
2. García-Lara, Silverio, and Sergio O. Serna-Saldivar. 'Chapter 1 - Corn History and Culture'. In *Corn (Third Edition)*, edited by Sergio O. Serna-Saldivar, Third Edition., 1–18. Oxford: AACC International Press, 2019;
3. Serna-Saldivar, Sergio O., and Esther Perez Carrillo. 'Chapter 16 - Food Uses of Whole Corn and Dry-Milled Fractions'. In *Corn (Third Edition)*, edited by Sergio O. Serna-Saldivar, Third Edition., 435–67. Oxford: AACC International Press, 2019;
4. Siyuan, Sheng, Li Tong, and RuiHai Liu. 'Corn Phytochemicals and Their Health Benefits'. *Food Science and Human Wellness* 7, no. 3 (2018): 185–95;
5. Piermarini, S., G. Volpe, L. Micheli, D. Moscone, and G. Palleschi. 'An ELIME-Array for Detection of Aflatoxin B1 in Corn Samples'. *Food Control* 20, no. 4 (2009): 371–75;
6. Battilani, P., P. Toscano, H. J. Van der Fels-Klerx, A. Moretti, M. Camardo Leggieri, C. Brera, A. Rortais, T. Goumperis, and T. Robinson. 'Aflatoxin B1 Contamination in Maize in Europe Increases Due to Climate Change'. *Scientific Reports* 6, no. 1 (2016): 24328;
7. Serna-Saldivar, S. O. (Ed.). *Corn: Chemistry and Technology*. Elsevier, 2018;
8. Bern, Carl J.; Steele, James L.; and Morey, R. Vance, "Shelled Corn CO2 Evolution and Storage Time for 0.5% Dry Matter Loss" (2002). *Agricultural and Biosystems Engineering Publications*. 459;
9. Elizabet Janić Hajnal, Jovana Kos, Jelena Krulj, Saša Krstović, Igor Jajić, Lato Pezo, Bojana Šarić & Nataša Nedeljković Aflatoxins contamination of maize in Serbia: the impact of weather conditions in 2015, *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34:11 (2017), 1999-2010;
10. Shi, Hu, Richard Stroshine, and Klein Ileleji. 'Aflatoxin Reduction in Corn by Cleaning and Sorting'. *American Society of Agricultural and Biological Engineers Annual International Meeting 2014, ASABE 2014 1* (2014): 311–21;
11. Chauhan, Yashvir, Jeff Tatnell, Stephen Krosch, James Karanja, Benoit Gnonlonfin, Immaculate Wanjuki, James Wainaina, and Jagger Harvey. 'An Improved Simulation Model to Predict Pre-Harvest Aflatoxin Risk in Maize'. *Field Crops Research* 178 (2015): 91–99;
12. Guo, Baozhu, Xiangyun Ji, Xinzhi Ni, Jake C. Fountain, Hong Li, Hamed K. Abbas, Robert D. Lee, and Brian T. Scully. 'Evaluation of Maize Inbred Lines for Resistance to Pre-Harvest Aflatoxin and Fumonisin Contamination in the Field'. *The Crop Journal* 5, no. 3 (2017): 259–64;

13. Shanakhat, Hina, Angela Sorrentino, Assunta Raiola, Annalisa Romano, Paolo Masi, and Silvana Cavella. 'Current Methods for Mycotoxins Analysis and Innovative Strategies for Their Reduction in Cereals: An Overview: Detection and Detoxification Techniques for Mycotoxins in Cereals'. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 98 (2018);
14. Bullerman, Lloyd B., and Andreia Bianchini. 'Good Food-Processing Techniques: Stability of Mycotoxins in Processed Maize-Based Foods'. *Wiley Online Library*, (2014): 89-100.
15. Braun, Markus Santhosh, and Michael Wink. "Exposure, occurrence, and chemistry of fumonisins and their cryptic derivatives." *Comprehensive reviews in food science and food safety* 17.3 (2018): 769-791.
16. Karlovsky, Petr, Michele Suman, Franz Berthiller, Johan De Meester, Gerhard Eisenbrand, Irène Perrin, Isabelle P. Oswald, et al. 'Impact of Food Processing and Detoxification Treatments on Mycotoxin Contamination'. *Mycotoxin Research* 32, no. 4 (2016): 179–205;
17. Bordini, Jaqueline Gozzi, Mario Augusto Ono, Glauco Tironi Garcia, Victor Hugo Meconi Fazani, Édio Vizoni, Karem Caroline Bonacin Rodrigues, Elisa Yoko Hirooka, and Elisabete Yurie Sataque Ono. 'Impact of Industrial Dry-Milling on Fumonisin Redistribution in Non-Transgenic Corn in Brazil'. *Food Chemistry* 220 (2017): 438–43;
18. Macke, Joshua A, Martin O Bohn, Kent D Rausch, and Rita H Mumm. 'Genetic Factors Underlying Dry-Milling Efficiency and Flaking-Grit Yield Examined in US Maize Germplasm'. *Crop Science* 56, no. 5 (2016): 2516–26;
19. Moreno, Ángel Hernández, Rafael Hernández Maqueda, I Ballesteros, and Carlos Torres-Miño. 'Microwave Drying of Corn Seeds: Effect of Temperature on Drying Time, Energy Consumption and Germination Rate'. In *Paper to Be Presented at 17th International Conference on Microwave and High Frequency Heating. Valencia, Spain: AMPERE*, 2019;
20. Mannaa, Mohamed, and Ki Deok Kim. 'Influence of Temperature and Water Activity on Deleterious Fungi and Mycotoxin Production during Grain Storage'. *Mycobiology* 45, no. 4 (2017): 240–54;
21. Shotwell, O. L. 'Aflatoxin in Corn'. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 54, no. 3 (1977): A216–24;
22. Sun, Xiang Dong, Ping Su, and Hong Shan. 'Mycotoxin Contamination of Maize in China'. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16, no. 5 (2017): 835–49;
23. Wang, Limin, Bin Liu, Jing Jin, Longxue Ma, Xiaofeng Dai, Lin Pan, Yang Liu, Yueju Zhao, and Fuguo Xing. 'The Complex Essential Oils Highly Control the Toxigenic Fungal Microbiome and Major Mycotoxins during Storage of Maize'. *Frontiers in Microbiology* 10 (2019): 1643;

24. Claumann, Carlos Alberto, Adriano Cancelier, Adriano da Silva, Andre Wuest Zibetti, Toni Jefferson Lopes, and Ricardo Antônio Francisco Machado. 'Fitting Semi-Empirical Drying Models Using a Tool Based on Wavelet Neural Networks: Modeling a Maize Drying Process'. *Journal of Food Process Engineering* 41, no. 1 (2018): e12633;
25. Moreno, Elaine Cunha, Glauco Tironi Garcia, Mario Augusto Ono, Édio Vizoni, Osamu Kawamura, Elisa Yoko Hirooka, and Elisabete Yurie Sataque Ono. 'Co-Occurrence of Mycotoxins in Corn Samples from the Northern Region of Paraná State, Brazil'. *Food Chemistry* 116, no. 1 (2009): 220–26;
26. Aprodu, I., and I. Banu. 'Co-Occurrence of Fumonisin and T-2 Toxins in Milling Maize Fractions under Industrial Conditions'. *CyTA - Journal of Food* 13, no. 1 (2015): 102–6;
27. Pinotti, Luciano, Matteo Ottoboni, Carlotta Giromini, Vittorio Dell'Orto, and Federica Cheli. 'Mycotoxin Contamination in the EU Feed Supply Chain: A Focus on Cereal Byproducts'. *Toxins* 8, no. 2 (2016): 45;
28. Valencia-Quintana, Rafael, Juana Sánchez-Alarcón, María Guadalupe Tenorio, Youjun Deng, Stefan Marian Waliszewski, and Miguel Ángel Valera. 'Preventive Strategies Aimed at Reducing the Health Risks of Aflatoxin B 1'. *Toxicology and Environmental Health Sciences* 4, no. 2 (2012): 71–79;
29. Jalili, Maryam. 'A Review on Aflatoxins Reduction in Food'. *Iranian Journal of Health, Safety and Environment* 3, no. 1 (2016): 445–59;
30. Villada, JA, F Sánchez-Sinencio, O Zelaya-Ángel, E Gutiérrez-Cortez, and ME Rodríguez-García. 'Study of the Morphological, Structural, Thermal, and Pasting Corn Transformation during the Traditional Nixtamalization Process: From Corn to Tortilla'. *Journal of Food Engineering* 212 (2017): 242–51;
31. Cazzaniga, D., J.C. Basílico, R.J. González, R.L. Torres, and D.M. De Greef. 'Mycotoxins Inactivation by Extrusion Cooking of Corn Flour'. *Letters in Applied Microbiology* 33, no. 2 (2001): 144–47;
32. Rojas-Molina, Isela, Monserrat Mendoza-Avila, María de los Ángeles Cornejo-Villegas, Alicia Del Real-López, Eric Rivera-Muñoz, Mario Rodríguez-García, and Elsa Gutiérrez-Cortez. 'Physicochemical Properties and Resistant Starch Content of Corn Tortilla Flours Refrigerated at Different Storage Times'. *Foods* 9, no. 4 (2020): 469;
33. Pessu, PO, S Agoda, IU Isong, OA Adekalu, MA Echendu, TC Falade, and others. 'Fungi and Mycotoxins in Stored Foods'. *African Journal of Microbiology Research* 5, no. 25 (2011): 4373–82;

34. Tellez-Giron, A, GR Acuff, C Vanderzant, LW Rooney, and RD Waniska. 'Microbiological Characteristics and Shelf Life of Corn Tortillas with and without Antimicrobial Agents'. *Journal of Food Protection* 51, no. 12 (1988): 945–48;
35. Méndez-Albores, JA, VG Arámbula, BME Vázquez, EM Mendoza, ORE Preciado, and E Moreno-Martínez. 'Effect of High Moisture Maize Storage on Tortilla Quality'. *Journal of Food Science* 68, no. 5 (2003): 1878–81;
36. Ramirez, Edna C, David B Johnston, Andrew J McAloon, Winnie Yee, and Vijay Singh. 'Engineering Process and Cost Model for a Conventional Corn Wet Milling Facility'. *Industrial Crops and Products* 27, no. 1 (2008): 91–97;
37. Paulsen, Marvin R., Mukti Singh, and Vijay Singh. 'Chapter 7 - Measurement and Maintenance of Corn Quality'. In *Corn (Third Edition)*, edited by Sergio O. Serna-Saldivar, Third Edition., 165–211. Oxford: AACC International Press, 2019;
38. Alam, MS, Jasmeen Kaur, Harjot Khaira, and Kalika Gupta. 'Extrusion and Extruded Products: Changes in Quality Attributes as Affected by Extrusion Process Parameters: A Review'. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56, no. 3 (2016): 445–73;
39. Peng, W-X, JLM Marchal, and AFB Van der Poel. 'Strategies to Prevent and Reduce Mycotoxins for Compound Feed Manufacturing'. *Animal Feed Science and Technology* 237 (2018): 129–53;
40. Zavala-Franco, Anai, Hector E Martinez-Flores, Alma Vazquez-Duran, and Abraham Méndez-Albores. 'Fate of Aflatoxins from a Novel Procedure for Tortilla Making Based on Infrared Heating'. *Philippine Agricultural Scientist* 99, no. 1 (2016): 42–49;
41. Bello-Pérez, Luis A, Pamela C Flores-Silva, Gustavo A Camelo-Méndez, Octavio Paredes-López, and Juan de Dios Figueroa-Cárdenas. 'Effect of the Nixtamalization Process on the Dietary Fiber Content, Starch Digestibility, and Antioxidant Capacity of Blue Maize Tortilla'. *Cereal Chemistry* 92, no. 3 (2015): 265–70;
42. Schaarschmidt, Sara, and Carsten Fauhl-Hassek. 'Mycotoxins during the Processes of Nixtamalization and Tortilla Production'. *Toxins* 11, no. 4 (2019): 227;
43. Torres, O, J Matute, Janee Gelineau-van Waes, JR Maddox, SG Gregory, AE Ashley-Koch, JL Showker, KA Voss, and RT Riley. 'Human Health Implications from Co-Exposure to Aflatoxins and Fumonisin in Maize-Based Foods in Latin America: Guatemala as a Case Study'. *World Mycotoxin Journal* 8, no. 2 (2015): 143–59;
44. Ryu, Dojin, Andreia Bianchini, and Lloyd B Bullerman. 'Effects of Processing on Mycotoxins'. *Stewart Postharvest Rev* 4, no. 6 (2008): 1–7;

45. Chaves-López, Clemencia, Chiara Rossi, Francesca Maggio, Antonello Paparella, and Annalisa Serio. 'Changes Occurring in Spontaneous Maize Fermentation: An Overview'. *Fermentation* 6, no. 1 (2020): 36;
46. Nazareth, Tiago de Melo, Carlos Luz, Raquel Torrijos, Juan Manuel Quiles, Fernando Bittencourt Luciano, Jordi Mañes, and Giuseppe Meca. 'Potential Application of Lactic Acid Bacteria to Reduce Aflatoxin B1 and Fumonisin B1 Occurrence on Corn Kernels and Corn Ears'. *Toxins* 12, no. 1 (2020): 21;
47. Mahmood Fashandi, Hamid, Roya Abbasi, and Amin Mousavi Khaneghah. 'The Detoxification of Aflatoxin M1 by *Lactobacillus Acidophilus* and *Bifidobacterium Spp.*: A Review'. *Journal of Food Processing and Preservation* 42, no. 9 (2018): e13704;
48. Serra, Marco Sinche, Marco Burbano Pulles, Freddy Torres Mayanquer, Martin Campos Vallejo, Marcelo Ibarra Rosero, Jorge Mina Ortega, and Luis Nuñez Naranjo. 'Evaluation of the Use of Gamma Radiation for Reduction of Aflatoxin B1 in Corn (*Zea Mays*) Used in the Production of Feed for Broiler Chickens'. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment* 7, no. 1 (2018): 21–33;
49. Pankaj, S. K., Hu Shi, and Kevin M. Keener. 'A Review of Novel Physical and Chemical Decontamination Technologies for Aflatoxin in Food'. *Trends in Food Science & Technology* 71 (2018): 73–83;
50. Sebaei, Ahmed Salem, Hassan M Sobhy, ASM Fouzy, and Omaina A Hussain. 'Occurrence of Zearalenone in Grains and Its Reduction by Gamma Radiation'. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, (2020): 1–9;
51. Thirumdas, Rohit, Chaitanya Sarangapani, and Uday S Annapure. 'Cold Plasma: A Novel Non-Thermal Technology for Food Processing'. *Food Biophysics* 10, no. 1 (2015): 1–11;
52. Shi, Hu, Klein Ileleji, Richard L Stroshine, Kevin Keener, and Jeanette L Jensen. 'Reduction of Aflatoxin in Corn by High Voltage Atmospheric Cold Plasma'. *Food and Bioprocess Technology* 10, no. 6 (2017): 1042–52;
53. Siciliano, Ilenia, Davide Spadaro, Ambra Prella, Dario Vallauri, Maria Chiara Cavallero, Angelo Garibaldi, and Maria Lodovica Gullino. 'Use of Cold Atmospheric Plasma to Detoxify Hazelnuts from Aflatoxins'. *Toxins* 8, no. 5 (2016): 125;
54. Misra, NN, Barun Yadav, MS Roopesh, and Cheorun Jo. 'Cold Plasma for Effective Fungal and Mycotoxin Control in Foods: Mechanisms, Inactivation Effects, and Applications'. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 18, no. 1 (2019): 106–20;
55. Kriz, Pavel, Bartos Petr, Havelka Zbynek, Kadlec Jaromir, Olsan Pavel, Spatenka Petr, and Dienstbier Miroslav. 'Influence of Plasma Treatment in Open Air on Mycotoxin Content and Grain Nutriments'. *Plasma Medicine* 5, no. 2–4 (2015);

56. Agriopoulou, S., A. Koliadima, G. Karaiskakis, and J. Kapolos. 'Kinetic Study of Aflatoxins' Degradation in the Presence of Ozone'. *Food Control* 61 (2016): 221–26;
57. Shahat, Mohamed S, Ahmed Noah Badr, Ahmed I Hegazy, Sherif Ramzy, and Mohamed Abdel Samie. 'Reducing the Histopathological and Biochemical Toxicity of Aflatoxins Contaminated Soybean Using Ozone Treatment'. *Annual Research & Review in Biology*, 2017, 1–10;
58. Porto, Yuri Duarte, Felipe Machado Trombete, Otniel Freitas-Silva, Izabela Miranda De Castro, Gloria Maria Direito, and José Luis Ramirez Ascheri. 'Gaseous Ozonation to Reduce Aflatoxins Levels and Microbial Contamination in Corn Grits'. *Microorganisms* 7, no. 8 (2019): 220;
59. Hussein, Halima Z, Riyam H Tuama, and Amna M Ali. 'Study the Effect of Ozone Gas and Ultraviolet Radiation and Microwave on the Degradation of Aflatoxin B1 Produce by *Aspergillus Flavus* on Stored Maize Grains'. *IOSR J. Agri. Vet. Scie* 8, no. 5 (2015);
60. Hojnik, Nataša, Uroš Cvelbar, Gabrijele Tavčar-Kalcher, James L Walsh, and Igor Križaj. 'Mycotoxin Decontamination of Food: Cold Atmospheric Pressure Plasma versus "Classic" Decontamination'. *Toxins* 9, no. 5 (2017): 151;
61. Rushing, Blake R, and Mustafa I Selim. 'Effect of Dietary Acids on the Formation of Aflatoxin B2a as a Means to Detoxify Aflatoxin B1'. *Food Additives & Contaminants: Part A* 33, no. 9 (2016): 1456–67;
62. Hassan, RA, MI Sand, and Sh M El-Kadi. 'Effect of Some Organic Acids on Fungal Growth and Their Toxins Production'. *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology* 3, no. 9 (2012): 391–97;
63. Jardon-Xicotencatl, Samantha, Roberto Díaz-Torres, Alicia Marroquín-Cardona, Tania Villarreal-Barajas, and Abraham Méndez-Albores. 'Detoxification of Aflatoxin-Contaminated Maize by Neutral Electrolyzed Oxidizing Water'. *Toxins* 7, no. 10 (2015): 4294–4314;
64. Méndez-Albores, A., G. Arámbula-Villa, M. G. F. Loarca-Piña, E. Castaño-Tostado, and E. Moreno-Martínez. 'Safety and Efficacy Evaluation of Aqueous Citric Acid to Degrade B-Aflatoxins in Maize'. *Food and Chemical Toxicology* 43, no. 2 (2005): 233–38;
65. Aiko, Visenuo, and Alka Mehta. 'Occurrence, Detection and Detoxification of Mycotoxins'. *Journal of Biosciences* 40, no. 5 (2015): 943–54;
66. Ashiq, Samina. 'Natural Occurrence of Mycotoxins in Food and Feed: Pakistan Perspective'. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 14, no. 2 (2015): 159–75;
67. Abdallah, Mohammed Fathi, GÖZDE Girgin, and Terken Baydar. 'Occurrence, Prevention and Limitation of Mycotoxins in Feeds'. *Anim. Nutr. Feed Technol* 15 (2015): 471–90;

68. Wang, Bei, Noreen E. Mahoney, Zhongli Pan, Ragab Khir, Bengang Wu, Haile Ma, and Liming Zhao. 'Effectiveness of Pulsed Light Treatment for Degradation and Detoxification of Aflatoxin B1 and B2 in Rough Rice and Rice Bran'. *Food Control* 59 (2016): 461–67;
69. Abuagela, Manal O, Basheer M Iqdam, Hussein Mostafa, Sara M Marshall, Yavuz Yagiz, Maurice R Marshall, Liwei Gu, and Paul Sarnoski. 'Combined Effects of Citric Acid and Pulsed Light Treatments to Degrade B-Aflatoxins in Peanut'. *Food and Bioprocess Technology* 117 (2019): 396–403;
70. Elmnasser, Noura, Sandrine Guillou, Françoise Leroi, Nicole Orange, Amina Bakhrouf, and Michel Federighi. 'Pulsed-Light System as a Novel Food Decontamination Technology: A Review'. *Canadian Journal of Microbiology* 53, no. 7 (2007): 813–21;
71. Udomkun, Patchimaporn, Alexander Nimo Wiredu, Marcus Nagle, Joachim Müller, Bernard Vanlauwe, and Ranajit Bandyopadhyay. 'Innovative Technologies to Manage Aflatoxins in Foods and Feeds and the Profitability of Application – A Review'. *Food Control* 76 (2017): 127–38;
72. Shi, Hu. 'Investigation of Methods for Reducing Aflatoxin Contamination in Distillers Grains', 2016;
73. Guo, Baozhu, Xiangyun Ji, Xinzhi Ni, Jake C. Fountain, Hong Li, Hamed K. Abbas, Robert D. Lee, and Brian T. Scully. 'Evaluation of Maize Inbred Lines for Resistance to Pre-Harvest Aflatoxin and Fumonisin Contamination in the Field'. *The Crop Journal* 5, no. 3 (2017): 259–64;
74. Williams, WP, MD Krakowsky, BT Scully, RL Brown, A Menkir, ML Warburton, and GL Windham. 'Identifying and Developing Maize Germplasm with Resistance to Accumulation of Aflatoxins'. *World Mycotoxin Journal* 8, no. 2 (2015): 193–209;
75. Mannaa, Mohamed, and Ki Deok Kim. 'Control Strategies for Deleterious Grain Fungi and Mycotoxin Production from Preharvest to Postharvest Stages of Cereal Crops: A Review'. *Life Sci Nat Resour Res* 25 (2017): 13–27;
76. Iram, Wajiha, Tehmina Anjum, Mazhar Iqbal, Abdul Ghaffar, Mateen Abbas, and Abdul Muqeet Khan. 'Structural Analysis and Biological Toxicity of Aflatoxins B1 and B2 Degradation Products Following Detoxification by Ocimum Basilicum and Cassia Fistula Aqueous Extracts'. *Frontiers in Microbiology* 7 (2016): 1105;
77. Iram, Wajiha, Tehmina Anjum, Mazhar Iqbal, Abdul Ghaffar, and Mateen Abbas. 'Structural Elucidation and Toxicity Assessment of Degraded Products of Aflatoxin B1 and B2 by Aqueous Extracts of Trachyspermum Ammi'. *Frontiers in Microbiology* 7 (2016): 346;
78. Restuccia, Cristina, Gea Oliveri Conti, Pietro Zuccarello, Lucia Parafati, Antonio Cristaldi, and Margherita Ferrante. 'Efficacy of Different Citrus Essential Oils to Inhibit the Growth

- and B1 Aflatoxin Biosynthesis of *Aspergillus Flavus*'. *Environmental Science and Pollution Research* 26, no. 30 (2019): 31263–72;
79. Atanda, OO, I Akpan, and F Oluwafemi. 'The Potential of Some Spice Essential Oils in the Control of *A. Parasiticus* CFR 223 and Aflatoxin Production'. *Food Control* 18, no. 5 (2007): 601–7;
 80. Mohamed, Neeven Fahmy, RS Shams El-Dine, Metwally Aly Metwally Kotb, and Aida Saber. 'Assessing the Possible Effect of Gamma Irradiation on the Reduction of Aflatoxin B1, and on the Moisture Content in Some Cereal Grains'. *Am. J. Biomed. Sci* 7, no. 1 (2015): 33–39;
 81. KOMISIJOS REGLAMENTAS (EB) Nr. 1881/2006 2006 m. gruodžio 19 d. nustatantis didžiausias leistinas tam tikrų teršalų maisto produktuose koncentracijas;
 82. Juodeikiene, G., D. Zadeike, I. Vidziunaite, E. Bartkiene, V. Bartkevics, and I. Pugajeva. 'Effect of Heating Method on the Microbial Levels and Acrylamide in Corn Grits and Subsequent Use as Functional Ingredient for Bread Making'. *Food and Bioproducts Processing* 112 (2018): 22–30;
 83. Schaarschmidt, Sara, and Carsten Fauhl-Hassek. 'The Fate of Mycotoxins during Secondary Food Processing of Maize for Human Consumption'. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 20, no. 1 (2021): 91–148;
 84. Gbashi, Sefater, Ntakadzeni Edwin Madala, Sarah De Saeger, Marthe De Boevre, and Patrick Berka Njobeh. 'Numerical Optimization of Temperature-Time Degradation of Multiple Mycotoxins'. *Food and Chemical Toxicology* 125 (2019): 289–304;
 85. Esper, Renata H, Edlayne Gonalez, Marcia OM Marques, Roberto C Felicio, and Joana D Felicio. 'Potential of Essential Oils for Protection of Grains Contaminated by Aflatoxin Produced by *Aspergillus Flavus*'. *Frontiers in Microbiology* 5 (2014): 269.