

OKRATOKSİKOZİS VE OKRATOKSİJENİK KÜFLER

OCHRATOXICOSIS AND OCHRATOXIGENIC MOLDS

Nural KARAGÖZLÜ , Mehmet KARAPINAR

Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Bornova, İZMİR

ÖZET: Okratoksinler çeşitli *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri tarafından sentezlenen toksik metabolitlerdir. Bunlar içerisinde okratoksin A (OA) en fazla toksik olan okratoksinidir. OA'yı daha sonra okratoksin B ve C takip etmektedir.

OA hayvanlarda böbreklerde yıkıma, karaciğer nekrozisi ve enteritise neden olmaktadır. Balkan Endemik Nefropati hastalığının yaygın olduğu bölgelerdeki gıdaların OA ile kontamine olması ve bu hastalık ile OA'nın stimüle ettiği domuz nefropati hastalığı arasındaki benzerlikler, bu toksinin Balkan Endemik Nefropati etmeni olduğu görüşünü kuvvetlendirmektedir.

SUMMARY: Ochratoxins have been isolated as toxic metabolites of several species of *Aspergillus* and *Penicillium* and exhibit various toxicities. Among them ochratoxin A (OA) is the most toxic, which is followed by ochratoxin B and C.

OA causes kidney damage, liver necrosis and enteritis in the endemic human disease named as Balkan Endemic Nephropathy since the contamination of foods with OA in the endemic area was reported to be more frequent than in the nonendemic areas and there are striking similarities between this disease and the OA induced porcine nephropathy.

GİRİŞ

Mikotoksinler küflerin insan ve hayvanlarda hastalık yapan patolojik ve tanımlanamayan fizyolojik etkilere neden olan ikincil metabolitleridir. Mikotoksikozis ise mikotoksinlerle kontamine olmuş gıda ve yemlerin tüketilmesiyle ortaya çıkan hastalıklardır (GOTO, 1990).

Fusarium türlerinin neden olduğu Alimentaria Toxic Aleuka, *Claviceps* türlerinin neden olduğu ergotizm, *Penicillium* türlerinin neden olduğu sarı pirinç zehirlenmesi gibi mikotoksikozislerin tarihsel önemi vardır ve bunlar geçmişte salgınlar halinde özellikle Rusya'da, Japonya'da ve çeşitli Avrupa ülkelerinde hastalıklara neden olmuşlardır (GOTO, 1990).

Diğer yandan 1960 yılında İngiltere'de *Aspergillus flavus* grup küflerin sentezlediği aflatoksin hindi ve ördeklerde "turkey X disease" olarak isimlendirilen hastalığa neden olmuş ve 100000'den fazla hayvanın ölümüne yol açmıştır. Aynı tarihlerde Amerika Birleşik Devletleri'nde balık üretim çiftliklerinde, alabalıklarda karaciğer kanserine rastlanmış; bunun, balıkların beslenmesinde kullanılan çığit küspesinin aflatoksin kontamine olmasıyla kaynaklandığı saptanmıştır (GOTO, 1990).

1970'li ve 1980'li yıllarda ise *Fusarium* türlerinin neden olduğu trichothecene'lere bazı Güneydoğu Asya ülkelerinde, Amerika Birleşik Devletleri'nde ve Kanada 'da rastlanmıştır (GOTO, 1990).

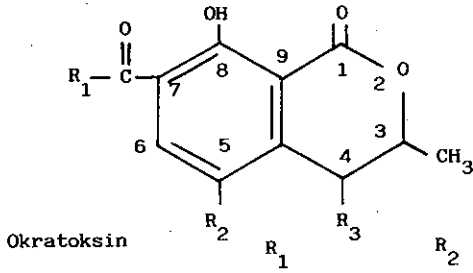
Günümüzde 300 civarında mikotoksin bilinmektedir. Mikotoksin üreten küf cinslerinin en önemlileri *Aspergillus* , *Penicillium* , *Fusarium* ve *Alternaria*'dır. Yapılan araştırmaların çoğunluğu aflatoksin ve trichothecene'ler üzerinde yoğunlaşmış; okratoksin (OT) , patulin, sitrinin, sterigmatosistin, zearalenon ve siklopiazonik asit gibi toksinlerle çalışmaya yeni yeni başlamıştır (GOTO, 1990).

OKRATOKSİNİN KİMYASAL YAPISI

OT-A ve daha az toksik dekloro analogu olan OT-B, ilk kez 1965 yılında Güney Afrika'lı kimyacılar tarafından tanımlanmıştır (UENO, 1987). OT 'nin kimyasal formülü Şekil 1 de verilmiştir.

OT renksiz kristal halinde olan bir bileşiktir . OT - A , L-β-phenylalanine'e karboksil grubuyla bağlanmış 7 - carboxy - 5 - chloro - 8 - hydroxy - 3,4 - dihydro - 3R methyl isocoumarin içermektedir. Bu bileşik hububat, gıda, hayvan yemlerinde ve hayvan dokularında sıkça rastlanan ve en fazla toksik olan OT'dir. Polar organik çözücülerde yüksek oranda, suda çok az, sulu NaHCO₃'de kolayca çözünür (STEYN, 1984; UENO, 1987).

OT-B ise daha az toksik bir metabolitdir. C-5 bağında klor içermez. OT-A ve OT-B' nin metil ve etil esterleri mevcuttur ve bunlar *A. ochraceus* kültürünün minör metabolitleri olarak sentezlenirler OT-A'nın esterlerinin toksisitesi OT-A'nın toksisitesine yakınken, OT-B'nin esterleri toksik değildir.



	Okratoksin	R ₁	R ₂	R ₃
a =		R ₁	R ₂	R ₃
A	a	Cl	H	
b =		a	H	H
B	a	H	H	
C	b	Cl	H	
A Metil Ester	c	Cl	H	
B Metil Ester	c	H	H	
B Etil Ester	b	H	H	
4-OH-OA	a	Cl	OH	
α	OH	Cl	H	
B	OH	H	H	

Şekil 1. Okratoksinin kimyasal formülü (MARQUARD ve FROHLICH, 1990)

OT'lerden 4-hydroxy OT-A *P. viridicatum*' dan; OT-A 'nın dihydroisocoumarin kısmına yapısal olarak benzeyen mellein ve hydroxymellein ise *A. ochraceus* ve diğer suşlardan izole edilmiştir (UENO, 1987).

OKRATOKSİN SENTEZLEYEN KÜFLER

OT-A, ilk kez sorgum danelerinden izole edilen *A. ochraceus* K- 804 suşundan sentezlenmiştir. Çeşitli *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri OT sentezlemektedirler . Bu küf türleri *A. aliceus* , *A. melleus* , *A. ochraceus*, *A. ostianus*, *A. petrakii*, *A. sulphureus*, *A. sclerotium*, *P. commune*, *P. cyclopium*, *P. crysogenum*, *P. palitans*, *P. purpurescens*, *P. variable*, *P. vernuculosum*, ve *P. viridicatum*'dur. Yapılan bir çalışmada çeşitli *Penicillium* türlerinin sadece laboratuvar koşullarında ve saf kültür ortamında OT sentezleyebildikleri; tarlada ise sadece *P. viridicatum*'un OT ürettiği belirtilmesine rağmen; Danimarka'daki arpa tanelerinde OT sentezleyen küflerin araştırıldığı bir başka çalışmada, *P. chrysogenum* ve *P. purpurescens* türlerinin dominant türler olduğu ve *P. purpurescens*'in en fazla OT üreten küf türü olarak saptandığı bildirilmiştir (MIROCHA ve ark.,1980; UENO, 1987).

OKRATOKSİNİN BULUNDUĞU YERLER

OT çeşitli tarımsal ürünlerde oldukça yaygındır. Yapılan araştırmalarda toksin özellikle Yugoslavya, Romanya, Bulgaristan ve İskandinav ülkelerinde saptanmıştır. OT'nin çeşitli ülkelerde yapılan araştırmalarda bulunduğu gıdalar ve bunların düzeyleri Çizelge 1'de verilmiştir. Bunların yanında toksin Danimarka, İsveç ve İrlanda'da domuz yemlerinde; Kanada'da kızışmış buğday tanelerinde (0,03 - 27 ppm), küflü yerfıstığı ve kuru fasulyede; Fransa'da buğdayda, Yugoslavya'da mısır, buğday ve arpada; Danimarka ve İsveç'de domuz dokularında, tavuk etlerinde, yulafta saptanmıştır (FUKAL, 1991; GOTO, 1990; HAGGBLOM, 1982; MIROCHA ve ark., 1980; UENO, 1987).

OT-A adı geçen ürünler dışında yeşil kahve danelerinden de izole edilmiştir. 1982 - 1983 yıllarında Japonya'da yapılan bir araştırmada marketlerden satın alınan Brezilya, Endonezya ve Meksika kaynaklı 22 yeşil kahve örneğinin 4 'ünde 9,9 - 46 ppb düzeyinde OT saptanmıştır (TSUBOUCHI ve ark., 1985). Ayrıca Amerika Birleşik Devletleri'nde 267 kahve örneğinin %7,1 'inde 22- 360 ppb arasında OT bulunmuştur (GOTO, 1990). Yapılan bir başka araştırmada ise Yemen Arap Cumhuriyeti'nden ithal edilen 10 kahve örneğinin 3'ünde 6,5-17 ppb düzeyinde OT-A saptanmıştır (TSUBOUCHI ve ark., 1988).

OKRATOKSİNİN PATOJENİTESİ

OT-A bir nefrotoksindir ve çeşitli hayvanlarda nefrotoksik etkiler gösterdiği saptanmıştır. Özellikle Bulgaristan, Romanya ve Yugoslavya'da insanlarda görülen öldürücü böbrek hastalığı olarak bilinen Balkan Endemik Nefropatisi ile, OT'nin neden olduğu mikotoksik domuz nefropatisi arasındaki benzerlikler nedeniyle, OT-A'nın insanlarda endemik hastalıklara neden olduğu bildirilmiştir. Danimarka'da 1971 yılında 67, 1972 yılında 27 nefropati vakasında 100000 civarında domuz etkilenmiş, bu hayvanların buldukları

Çizelge 1. Çeşitli Ürünlerde Okratoksin - A'nın Durumu (GOTO, 1990 ve UENO, 1987)

Ülke	Ürün	Örnek Sayısı	% kontaminasyon	OT-A düzeyi (ppb)
A.B.D.	Mısır	-	-	110-150
	Buğday (kışlık)	291	1	15-115
	Buğday (yazlık)	286	2,8	50-200
	Kahve	267	7,1	22-360
Hindistan	Mısır	21	-	30-50
	Buğday	24	8	30-50
	Sorghum	24	12,5	50-70
	Öğütülmüş Fındık	18	11	50-200
Kanada	Hayvan Yemleri ve dokuları	496	1,1	50-200
İtalya	Küflü Ekmek	1	-	80000
Polonya	Domuz Böbreği	122	50	≥1
	Domuz serumu	388	38	1-450
İsveç	Domuz serumu	279	16	≥2
Bulgaristan	Mısır	22	27,3	25-35
	Fasulye	24	16,7	25-27
Almanya	Fındık	150	5	0,2-8,9 ng
İngiltere	Domuz böbreği	278	15	≤44
	Ekmek ve un	57	5	≤490

Çizelge 2. Bazı Hayvanlarda Okratoksin - A İçin LD₅₀ Değerleri (MIROCHA ve ark., 1980)

Ördek	150	µg
Erkek sıçan	28	mg/kg
Dişi sıçan	20	mg/kg
Yeni doğmuş sıçan	3,90	mg/kg
İnek	13	mg/kg
Keçi	3	mg/kg
Dişi kobay	8,1	mg/kg
Erkek kobay	9,1	mg/kg
Bir günlük civciv	3,3-3,9	mg/kg
Alabalık	4,67-5,53	mg/kg

Bazı hayvanlar OT-A'yı hidrolizleyerek OT-α ve L - fenilalanine, bazıları ise daha az olasılıkla olmak kaydıyla 4 ve 10-hidroksiokratoksin türevlerine dönüştürmektedir. Oluşan bu metabolitler toksik değillerdir. Ancak organizmada OT-A'nın metabolizmasının yavaş olduğu, domuzlarda oral dozun %66'sının absorbe edildiği ve bu absorbe olan toksinin yarılanma ömrünün 96 saat olduğu bildirilmiştir. Bu bakımdan OT-A'nın domuz dokularında uzun süre kaldığı söylenebilir. Dolayısıyla OT kontamineli yemle beslenmiş domuzların etlerinde OT-A'ya rastlanma olasılığı artmaktadır (Fukal, 1991). Almanya'nın çeşitli bölgelerinden 1983 yılında Haziran ve Aralık ayları arasında alınan 300 domuz böbreği örneğinin % 14'ünde 0,5 - 10 ppb düzeyinde OT saptanırken, Danimarka'da 1983 yılında 7639 nefropatik domuz böbreğinin %29'unda 25 ppb'den fazla OT-A saptanmıştır (GOTO, 1990).

Çeşitli et ürünlerinde depolamada bile OT-A'nın varlığını koruması toksinin yüksek kimyasal stabiliteye sahip olmasından kaynaklanmaktadır (FUKAL, 1991).

Bazı ülkelerin OT-A'ya ait maksimum tolere edilebilir düzeyleri Çizelge 3 'de verilmiştir.

OKRATOKSİJENİK KÜFLERİN ÜREMESİNE VE OKRATOKSİN SENTEZİNE ETKİ EDEN FAKTÖRLER

Mikotoksijenik küflerin üremesine ve mikotoksin sentezine etki eden faktörlerin farklı değerlerde oldukları çeşitli araştırmalarla ortaya konmuştur. Bilindiği üzere bu faktörler; su aktivitesi, pH, ortamdaki

çiftliklerdeki yemlerde 200 ppb'den fazla miktarda OT-A saptanmıştır (CHU, 1984; MIROCHA ve ark., 1980; UENO, 1987; STEYN, 1984).

OT-A'nın köpek, tavuk, ördek, fare, sıçan, koyun, alabalık, domuz gibi çeşitli hayvanlarda karaciğer nekrozisi gibi hastalıklara neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca fetal ağırlıklarda azalma, doğum öncesi ölüm, annede toksikozis, fare, sıçan ve hamsterlarda çeşitli sakatlıklara neden olduğu da saptanmıştır (CHU, 1984; EL-BANNA ve SCOTT, 1984; FUKAL, 1990; FUKAL, 1991; GOTO, 1990; PEPELJNIAK ve CVETNIK, 1984). OT-A'nın çeşitli hayvanlar için saptanmış LD₅₀ değerleri çizelge 2 de verilmiştir (MIROCHA ve ark. 1980).

Toksin, endemik nefropati gösteren insan topluluklarının bulunduğu yerlerde insan kanı örneklerinde ve hububat örneklerinde saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda insan kanı örnekleri analiz edilmiş ve Almanya'da örneklerin %56'sında, Çekoslovakya'da ise %24'ünde OT-A saptanmıştır (Fukal, 1991).

İnsan sağlığı OT ile iki yolla etki altındadır. Birincisi OT üreten küflerle kontamine olmuş gıdanın direk tüketimi, diğeri ise OT ile kontamine olmuş yemle beslenen hayvan etlerinin tüketimidir ki ; OT-A hayvanın etine, karaciğer, böbrek ve kanına geçebilmektedir. Bu iki yoldan biriyle toksin alan kişilerde Balkan Endemik Nefropatisi görülebilmektedir (FUKAL, 1990; STEYN, 1984; UENO, 1987).

Çizelge 3. Bazı Ülkelerde Okratoksin A'nın Maksimum Tolere Edilebilir Düzeyleri (VAN EGMOND, 1987)

Ülke	Ürün	Limit (ppb)	Düşünceler
Brezilya	Pirinç, arpa, mısır, fasulye	50	Karkasın tamamı red edilir. Böbrek, karaciğer ve diğer iç organlar red edilir.
Danimarka	Domuz böbreği	25	
Çekoslovakya	Tüketime hazır bebek mamaları	10	
	Diğer tüm gıdalar	1	
Romanya	Tüm gıdalar	20	
	Tüm yemler	5	

antimikrobiyal maddeler gibi iç etmenler ve depolama sıcaklığı, ortamın nisbi nemi, ortamdaki gazlar gibi dış etmenler olarak incelenebilir. Bu çerçevede okratoksijenik küfler ve okratoksin senteziyle ilgili olarak su aktivitesi, sıcaklık, pH, antifungal madde sonuçları kısaca özetlenecek olursa; öncelikle su aktivitesi açısından durum değerlendirildiğinde, *A. ochraceus*'un gelişebilmesi için gerekli minimum su aktivitesi değerinin 0,77 iken, organizmanın OT sentezleyebilmesi için gerekli su aktivitesi değerinin 0,88 olduğu bildirilmiştir. Diğer yandan *P.cyclopium*'un gelişebildiği minimum su aktivitesi değeri 0,82, *P. viridicatum*'unki ise 0,81 iken; *P. cyclopium* ve *P.viridicatum*'un 0,90'ın altındaki su aktivitesi değerlerinde OT sentezleyemedikleri saptanmıştır. Çoğunlukla toksin sentezi için gerekli minimum su aktivitesi değeri, organizmanın gelişebilmesi için gerekli minimum su aktivitesi değerinden daha yüksektir. Organizmanın toksin sentezleyebildiği su aktivitesi değerine substrat büyük ölçüde etki eder. Örneğin, *A.ochraceus* tavuk yeminde 0,88 su aktivitesinde OT sentezlerken, Malt Extract Agar'da 0,99 su aktivitesinde OT sentezlemektedir (BULLERMAN ve ark., 1984; NORTHOLT ve BULLERMAN, 1982; SILLIKER ve ark., 1980). *P. cyclopium* ve *P. viridicatum* 4 - 31°C arasındaki sıcaklıklarda OT sentezlerken, *A. ochraceus* 12°C'nin altındaki değerlerde toksin sentezleyememektedir. Ancak toksin sentezi için gerekli olan sıcaklık derecesine substrat da etki etmektedir (BULLERMAN ve ark., 1984). Yapılan bir çalışmada *P.verrucosum var. cyclopium*'un peynirde 20 - 24°C arasında, katı besiyerinde ise 4 - 24°C arasındaki sıcaklıklarda toksin sentezleyebildiği saptanmıştır (NORTHOLT ve BULLERMAN, 1982).

pH açısından OT-A'nın pH 5,5'da, pH 4,5'a göre daha fazla sentezlendiği belirtilmişse de; yapılan araştırmalarda pH değişikliklerinin OT sentezini çok fazla etkilemediği de bildirilmiştir.

OKRATOKSİJENİK KÜFLERİN GELİŞİMİNİN VE OKRATOKSİN SENTEZİNİN KONTROLÜ

Mikotoksin sentezinin engellenmesi, özellikle mikotoksijenik küflerin gıdaya bulaşmasının önlenmesi ve daha sonra da mikotoksin sentezine etki eden faktörlerin kontrol altında tutulmasıyla mümkün olmaktadır. Tarımsal kaynaklı gıdalarda mikotoksijenik küflerin gıdaya bulaşması öncelikle tarlada başladığı için, bu aşamada kontaminasyonun önlenmesi güçtür. Dolayısıyla önemli olan mikotoksijenik küflerin üremelerinin ve mikotoksin sentezinin engellenmesidir. Nem içeriği düşürülerek veya kontrollü depolama sıcaklığı ve atmosfer ile mikotoksijenik küf gelişimi ve mikotoksin sentezi önlenabilir. *Aspergillus* türlerince sentezlenen aflatoksin, OT ve diğer toksinlerin 5 - 8°C'nin altındaki sıcaklıklarda sentezlenmedikleri bildirilmiştir. Kür edilmiş etler, arpa, buğday, soya gibi gıdalar mikotoksijenik küf gelişimi, dolayısıyla mikotoksin sentezi için oldukça uygundur. Bu durumda sıcaklık ve nem kombinasyonları dikkate alınarak kontrol sağlanmaya çalışılabilir (BULLERMAN ve ark., 1984).

Diğer yandan küfler bilindiği gibi aerobik mikroorganizmalardır. Düşük oksijen konsantrasyonu ve / veya diğer gazların yüksek konsantrasyonu küf gelişimini ve mikotoksin sentezini olumsuz yönde etkiler. Ancak yapılan araştırmalar mikotoksin sentezinin, O₂ miktarı %1'in altına düşürülmediği veya CO₂ miktarı %90'ın üzerine çıkarılmadığı takdirde tam olarak engellenemediğini göstermiştir (BULLERMAN ve ark., 1984).

Çeşitli antimikotik maddelerin, mikotoksijenik küflerin gelişimi ve mikotoksin sentezi inhibisyonlarına ilişkin etkileri araştırılmaktadır. Bu çerçevede yapılan çalışmalarda sorbik asit, propiyonik asit, benzoik asit ve bunların tuzları, sodyumdiasetat, esansiyel yağlar en çok kullanılan maddelerdir. Yapılan bir çalışmada 500 - 1500 ppm potasyum sorbatın patulin ve OT sentezleyen *Pencillium*'ları inhibe ettiği, 1000 - 1500 ppm potasyum sorbatın mikotoksin sentezini tamamen engellediği veya çok düşük düzeye kısıtladığı saptanmıştır. Benzer şekilde %1'lik propiyonik asidin depolanmış mısırdaki *A. flavus*, *A.*

parasiticus, *A. ochraceus* ve *P. viridicatum* 'un gelişimini ve aflatoksin ve OT sentezini engellediği belirlenmiştir. Kuvvetli antimikotik özelliklere sahip bir antibiyotik olan natamisin ise 1 - 50 ppm düzeyinde aflatoksin, OT, patulin ve penisilik asit sentezini inhibe ettiği saptanmıştır (BULLERMAN ve ark., 1984). Diğer yandan OT'nin yeşil kahve tanelerindeki doğal oluşumu göz önüne alınarak, kafeinin *A. ochraceus* gelişimine ve OT sentezine olan etkisi üzerine çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Bir çalışmada yeşil kahve danelerinden izole edilen *A. ochraceus* suşlarının % 0,1 - 1 kafein veya yeşil kahve içeren sıvı besi yerlerinde gayet iyi geliştikleri ve 34 - 130 ppm düzeyinde OT sentezledikleri saptanmıştır (TSUBOUCHI ve ark., 1985; TSUBOUCHI ve ark., 1987).

Mikotoksinlerin kontrolü açısından genel çerçevede nihai yaklaşım, sentezlenmiş olan toksinin degradasyonu veya uzaklaştırılmasıdır. Bu amaçla yapılan bir çalışmada kavurma işleminin OT miktarına etkisi araştırılmış, bütün haldeki kahve danelerinin 200 °C 'de 5 dakika kavrulması sonucunda toksinde önemli miktarda azalmanın olmadığı belirlenmiştir. Diğer yandan OT-A ve aflatoksin inoküle edilmiş yeşil kahve örneklerinin 200 °C 'de 5 dakika kavrulması işleminde OT miktarında %80 azalma olduğu saptanmıştır (TSUBOUCHI ve ark., 1985; TSUBOUCHI ve ark., 1987). Bir başka çalışmada ise OT-A ile kontamine olmuş yeşil kahve tanelerinde 200 °C 'de 10 - 20 dakikalık ısısal işlemin toksini az miktarda azalttığı ve kalan toksinin ise kahve taneleri öğütüldüğü ve sıcak suyla ekstrakte edildiğinde kaynatma suyuna geçtiği belirtilmiştir (TERADA ve ark., 1986).

KAYNAKLAR

- BULLERMAN, L.B., L.L. SCHROEDER, K.-Y. PARK. 1984. Formation and control of mycotoxins in food. *J. of Food Prot.* 47 (8) 637-646.
- CHU, F.S. 1984. Immunochemical studies on mycotoxins. "Developments in food science. Toxicogenic fungi - their toxins and health hazard. Ed. H. Kurata, Y. Ueno" s. 234 - 244. Kodansha Ltd. Tokyo.
- EL - BANNA, A.A., P.M. SCOTT. 1984. Fate of mycotoxins during processing of foodstuffs 3. Ochratoxin A during cooking of faba beans (*Vicia faba*) and polished wheat. *J. of Food Prot.* 47 (3) 189 - 192.
- FUKAL, L. 1990. A survey of cereals, cereal products, feedstuffs, and porcine kidneys for ochratoxin - A by RIA. *Food Additiv. and Contamin.* 7 (2) 253 - 258.
- FUKAL, L. 1991. Spontaneous occurrence of ochratoxin - A residue in Czechoslovak slaughter pigs determined by IA. *Deutsche Lebensmittel - Rundschau* 87 (10) 316 - 319.
- GOTO, T. 1990. Mycotoxins: current situation. *Food Reviews Intern.* 6 (2) 265 - 290.
- HAGGBLOM, P. 1982. Production of ochratoxin - A in barley by *A. ochraceus* and *P. viridicatum* : Effect of fungal growth, time, temperature and inoculum size. *Appl. and Environ. Microbiol.* 43: 1205 - 1207.
- MARQUARDT, R.R., A. FROHLICH. 1990. Ochratoxin A: an important western Canadian storage mycotoxin. *Can. J. of Physiol. Pharmacol.* 68; 991 - 999.
- MIROCHA, C.J., S.V. PATHRE, C.M. CHRISTENSEN. 1980. Mycotoxins. "Advances in cereal science and technology, vol. 3. Ed. Y. Pomeranz." s. 159 - 203. A.A.C.C. Inc. St. Paul - Minnesota, USA
- NORTHOLD, M.D., L.B. BULLERMAN. 1982. Prevention of mold growth and toxin production through control of environmental conditions. *J. of Food Prot.* 45 (6) 519 - 526.
- PEPELJNIAK, S., Z. CVETNIC. 1984. Distribution of molds on stored grains in households in an area affected by endemic nephropathy in Yugoslavia. *Mycopath.* 86: 83 - 87.
- SILLIKER, J.H., R.P. ELLIOT, A.C. BAIRD PARKER, F.L. BRYAN, J.H.B. CHRISTIAN, D.S. CLARK, J.C. OLSON, Jr., T.A. ROBERTS. 1980. Microbial ecology of foods. Vol 1. Factors affecting life and death of microorganisms. By the International Commission on Microbiological Specifications for Foods. s. 79. Academic Press. New York, USA.
- STEYN, P.S. 1984. Ochratoxins and related dihydroisocoumarins. "Mycotoxins, production, isolation, separation and purification. Ed. V. Betina." s. 183 - 216. Elsevier Science Publishing Company Inc.
- TERADA, H., H. TSUBOUCHI, K. YAMAMOTO, K. HISADA, Y. SAKABE. 1986. Liquid chromatographic determination of ochratoxin A in coffee beans and coffee products. *J. of Assoc. of Anal. Chem.* 69 (6) 960 - 964.
- TSUBOUCHI, H., H. TERADA, K. YAMAMOTO, K. HISADA, Y. SAKABE. 1985. Caffeine degradation and increased ochratoxin A production by toxigenic strains of *A. ochraceus* isolated from green coffee beans. *Mycopath.* 90: 181 - 186.
- TSUBOUCHI, H., K. YAMAMOTO, K. HISADA, Y. SAKABE, S. UDAGAWA. 1987. Effect of roasting on ochratoxin A level in green coffee beans inoculated with *A. ochraceus*. *Mycopath.* 97: 111-115.
- TSUBOUCHI, H. H. TERADA, K. YAMAMOTO, K. HISADA, Y. SAKABE. 1988. Ochratoxin A found in commercial roast coffee. *J. of Agric. Food Chem.* 36: 540 - 542.
- UENO, Y. 1987. Ochratoxins. "Toxicological aspects of foods Ed. K. Miller" s. 155 - 163. Elsevier Applied Science Publishers Ltd.
- VAN EGMOND, H.P., 1987. Current limits and regulations on mycotoxins. Joint FAO/WHO/UNEP second International Conference on Mycotoxins. Bangkok, Thailand, 28 September-3 October 1987.