

МИКОТОКСИКОЛОГИЧЕН МОНИТОРИНГ ВЪРХУ СТЕПЕНТА НА КОНТАМИНАЦИЯ С ФУМОНИЗИНИ В ЦАРЕВИЦА И ЦАРЕВИЧНИ ПРОДУКТИ

Георги Беев

Катедра „Биохимия, микробиология и физика“, Аграрен факултет, Тракийски университет,
гр. Стара Загора

ABSTRACT

Fumonisin B1 (FB1) is a mycotoxin that commonly occurs in corn. FB1 causes a variety of toxic effects in different animal species and has been implicated as a contributing factor of esophageal cancers in humans. The aim of the present study is to evaluate the presence of fumonisin B1 as natural contaminant in corn and corn-based products. A total of 150 samples were analyzed for fumonisin contamination using immunoaffinity columns and Fluorometer & HPLC, Series-4. Fumonisin in corn have showed a widespread distribution (in 75,8% of tested samples). Maximum fumonisin concentrations were found in processed feeds for pigs. On the other hand, all tested samples of corn starch were negative regarding the presence of fumonisins

Key words: *fumonisin B1, natural contamination, corn, corn-based products.*

ВЪВЕДЕНИЕ

Микотоксините са вторични гъбни метаболити, продуцирани основно от представители на клас *Deuteromycetes*, които са често срещани контаминанти по зърнените култури и храни, грубите и тревни фуражи, фуражните ингредиенты и др. От установените досега над 300 разновидности на микотоксините, най-широко разпространени, с висок екологичен, социално-здравен и икономически риск са афлатоксините, охратоксините, фумонизините, зеараленолът и деоксиниваленолът.

Фумонизините (polyhydroxyalkilamines) представляват група от поне 14 различни фузариумни микотоксина (Dragan *et al.*, 2001), продуцирани основно от *F. verticillioides* (= *F. moniliforme*), *F. proliferatum*, *F. nygamai*, както и *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* (Marasas *et al.*, 2001; Rheeder *et al.*, 2002), които са широко разпространени като сапрофити и/или фитопатогени основно по царевичката, но се откриват и в пшеницата, соргото и други зърнени (Беев, 2009; Marasas *et al.*, 1984; Bееv *et al.*, 2011). Изолираните досега фумонизини се разпределят в четири серии, обозначени с латинските букви А, В, С и Р. В серия В са включени най-активните фумонизини и в частност фумонизин В₁ (FB₁), който съставлява около 70% от общото количество на всички фумонизини (Pitet, 1998). Най-често се открива в царевичката и комбинираните фуражи, както и в царевичните продукти предназначени за човешка консумация (Rheeder *et al.*, 1992; Sanchis *et al.*, 1995; Logrieco *et al.*, 2002). Консумацията на храни и фуражи контаминирани с фумонизини може да индуцира многообразие от клинични интоксикации при различните животински видове, като левкоенцефаломалация при конете (equine leucoencephalomalacia - ELEM) (Marasas *et al.*, 1988) и зайците (Vucci *et al.*, 1996); белодробен едем (porcine pulmonary edema – PPE) и хидроторакс при прасетата (Harrison *et al.*, 1990); хепатотоксични и канцерогенни ефекти, апоптоза на чернодробните клетки при плъхове (Gelderblom *et al.*, 1988; 1991; 2001).

Доказаната канцерогенна активност на FB₁ при гризачи (Gelderblom *et al.*, 1991), както и свойството им да предизвикват апоптоза *in vitro* в човешки епителни клетки (Caloni *et al.*, 2002) и *in vivo* в черния дроб и бъбреците на плъхове и мишки (Tolleson *et al.*, 1996), води до включването на фумонизините в групата на възможните канцерогени за човека (Group 2B) (IARC, 1993).

Налице са все повече доказателства за повсеместното разпространение на фумонизините в царевичката и царевичните продукти, както в световен мащаб, така и в Европа (WHO, 2002). Проблемът за замърсяването им с фумонизини е много по-отчетлив в южна Европа - Португалия (Peito & Venancio, 2004), Испания (Arago *et al.*, 2007), Италия (над

250 mg kg⁻¹) (Bottalico & Logrieco, 2001), Франция (над 3,3 mg kg⁻¹) (Bakan *et al.*, 2001) и Хърватия (над 5753 mg kg⁻¹) (Cvetnić *et al.*, 2005). В централните и североизточните европейски райони - Австрия (15 mg kg⁻¹) (Krska, 2007), Германия (Schollenberger *et al.*, 2002, 2005), Чешка Република (Nedelnik, 2000), Полша (Chelkowski *et al.*, 2001) и Русия (Lvova *et al.*, 2003) нивата на фумонизините са значително по-ниски, което се дължи на специфичните регионални екологични условия. Все пак вероятността за образуването на фумонизини е по-голяма в централна Европа, поради наличието на благоприятни екологични фактори, необходими за развитието и на двата основни фумонизинпродуциращи вида – *F. verticillioides* и *F. proliferatum* (Logrieco *et al.*, 2003; Beev *et al.*, 2011).

Информацията за нивата на фумонизините в зърнени култури, фуражи и храни произведени България е ограничена (Manova and Mladenova, 2009), поради което целта на настоящото изследване е да се определи степента на контаминиране с фумонизини на царевица и царевични продукти, произведени в различни еколого-географски райони на България.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Материали

За да могат да бъдат проучени количествените нива на фумонизините при царевица и някои царевични продукти, бяха изследвани общо 150 проби, от които: царевично зърно (91), царевични продукти (28) и комбинирани фуражи (стартер за прасета) (31). Пробите от комбинирания фуражи са вземани от различни фуражни предприятия и свинеферми на територията на градовете Русе, Разград, Търговище, Шумен, Силистра и Варна.

Методи

Наличието на фумонизини беше определяно чрез моноклонална имуноафинитетна хроматография. За целта са използвани имуноафинитетни колонки FumoniTest (VICAM, USA). Отчитането на пробите се извършваше с флуорометър (Fluorometer & HPLC, Series-4) производство на фирма VICAM (USA), според разработената от фирмата производител методика.

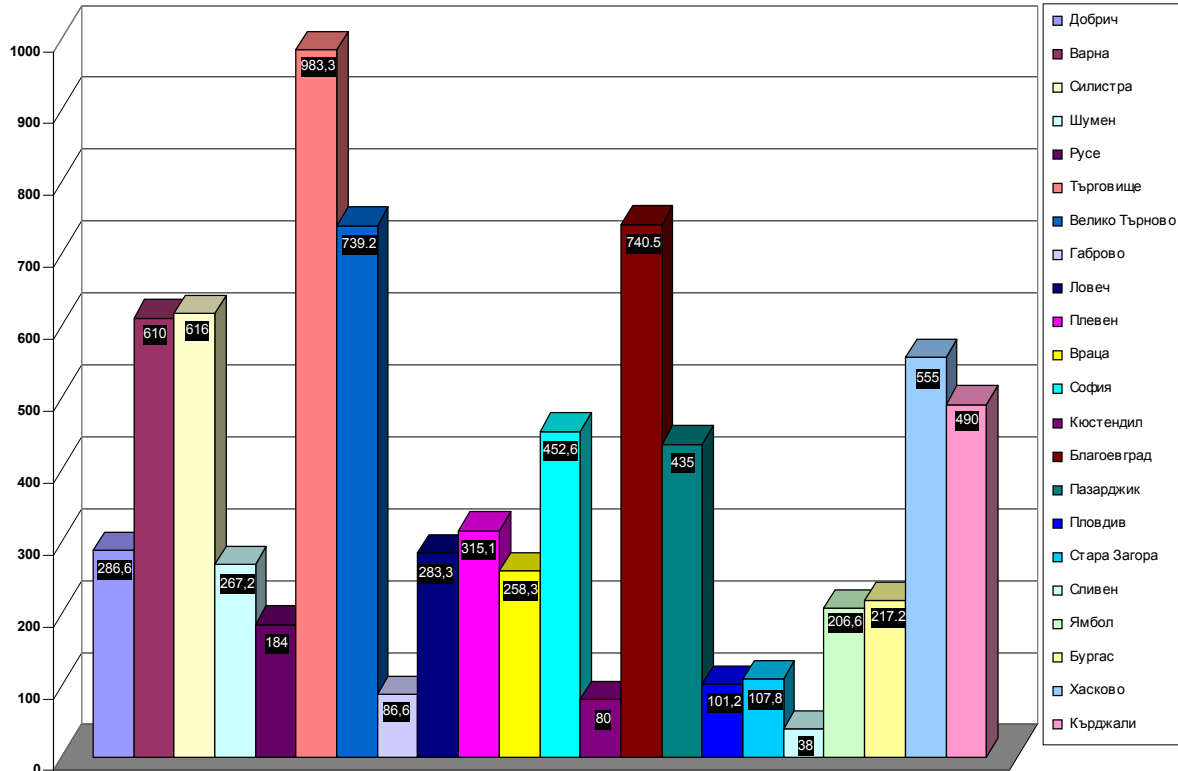
РЕЗУЛТАТИ

Замърсеност на царевичното зърно с фумонизини

Резултатите от проведените анализи върху замърсеността на изследваните проби царевица с фумонизини показват, че от общо 91 проби царевично зърно – 69 (75.8%) са замърсени с различни нива на фумонизини. При 22 (24.2%) от изследваните проби фумонизини не са доказани. От контаминиранияте 6 проби (8,22%) са с изключително висока концентрация на фумонизини - над 1000 µg/kg; 15 (20,55%) са с висока концентрация - от 500-1000 µg/kg; и 52 (71,23%) са с по-ниска степен на замърсяване (под 500 µg/kg). В царевично зърно, произведено в района на град Велико Търново е отчетена най-високата концентрация на фумонизини (2800 µg/kg) от изследваните проби, което превишава 2,8 пъти пределно допустимата концентрация (ПДК) (1000 µg/kg), регламентирана в Наредба № 31 на МЗ и Регламент № 1126/2007 на ЕС. В проба произхождаща от района на град Якоруда, установеното количество на фумонизини е 2300 µg/kg, превишаващо 2,3 пъти ПДК. Общото между двете проби царевично зърно е, че то е произведено в райони с по-голяма надморска височина. От друга страна, голяма част от изследваните проби, произхождащи от подобни райони (Сопот, Карлово, Казанлък, Дряново) са отрицателни по отношение наличието на фумонизини или се откриват в ниски концентрации. Останалите случаи на установени високи фумонизинови концентрации се отнасят за територии, разположени в Северна България – Търговище (2000 µg/kg) и Силистра (1100 µg/kg); Западна България – София (1200 µg/kg) и Южна България – Свиленград (1100 µg/kg) и Тополовград (1000 µg/kg).

Анализираните данни свидетелстват, че царевичата, от всички изследвани райони е контаминирана с фумонизини.

Среднените стойности на количеството фумонизини, разпределено по области според административното деление на страната са представени на Фигура 1. Най-високи средни стойности на фумонизините са отчетени в северните части на страната, и по-специално в зърнопроизводствените региони, като Търговищки (983,3 µg/kg), Велико-търновски (739,2 µg/kg), Варненски (610 µg/kg) и Силистренски (616 µg/kg).



Фигура 1. Средни стойности на фумонизините в царевича по области (µg/kg).

От друга страна, в останалите части на Северна България, обхванати в изследването (Добрич, Шумен, Русе, Габрово, Ловеч, Плевен, Враца), количеството на установените фумонизини е с ниски стойности и варира в тесни граници (Фиг. 1). Сред изброените по-горе райони най-ниско е количеството на фумонизините в Габровския регион (86,6 µg/kg).

Замърсеност на царевичните продукти с фумонизини

Резултатите от проведените анализи върху замърсеността на изследваните проби царевични продукти (царевично брашно, царевичен грис и царевично нишесте) с фумонизини са представени в Табл. 1.

Данните показват, че всички изследвани проби царевично брашно са замърсени с различни нива фумонизини, дължащо се най-вероятно на високата степен на замърсяване на царевичното зърно, като основна изходна суровина за производството му. От общо 12 изследвани проби при 6 (50%) са доказани много високи нива на фумонизини (1 000-1 500 µg/kg), превишаващи ПДК за царевични продукти, при 2 (16.66%) – са доказани високи нива (500-1 000 µg/kg) и при 4 проби (33.33%) – нива под 500 µg/kg.

Проби № 4 и 8 са най-замърсени с фумонизини, съответно 1 400 и 1 300 µg/kg, което значително превишава пределно допустимата концентрация, съгласно нормите определени в Наредба № 31 на МЗ.

При изследваните проби от царевичен грис (общо 9) е установено, че степента на замърсеност на този продукт е сравнително по-малка. В 5 от пробите (55.55%) не е доказано замърсяване с фумонизини, което ги прави безопасни за консуматора. Три от изследваните проби (№ 13, 20 и 21) (33.33%) са с нива на фумонизинова концентрация от 200 до 410 µg/kg, а при една от пробите (№140) (11.11%) нивото е много високо – в рамките на 600 µg/kg.

Таблица 1. Съдържание на фумонизини в царевични продукти

№ на пробата	Продукт	Фумонизини (µg/kg)
1	ЦАРЕВИЧНО БРАШНО	1 500
2		640
3		570
4		1 400
5		1 100
6		1 200
7		1 100
8		1 300
9		300
10		110
11		260
12		80
13	ЦАРЕВИЧЕН ГРИС	410
14		600
15		0.0
16		0.0
17		0.0
18		0.0
19		0.0
20		200
21		280
22	ЦАРЕВИЧНО НИШЕСТЕ	0.0
23		0.0
24		0.0
25		0.0
26		0.0
27		0.0

Всички изследвани проби (общо 6) от царевично нишесте са отрицателни по отношение наличието на фумонизини. Това е единствения царевичен продукт, в който последните не са доказани.

Замърсеност на комбинирани фуражи с фумонизини

Резултатите от проведените анализи върху замърсеността на изследваните проби комбинирани фуражи (стартер) за свине с фумонизини са представени в Табл. 2.

Получените данни демонстрират, че от общо 29 изследвани проби комбинирани фуражи, само 5 (№ 3, 4, 17, 18, 19) (17,24%) не са замърсени с фумонизини и при 1 проба (№ 27) установената стойност (370 µg/kg) е под 500 µg/kg.

Таблица 2. Съдържание на фумонизини в комбинирани фуражи

№ на пробата	Продукт	Фумонизини ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	КОМБИНИРАН ФУРАЖ	3 500
2		1 100
3		0.0
4		0.0
5		12 000
6		820
7		12 000
8		1 800
9		690
10		570
11		1 600
12		2 700
13		1 400
14		1 700
15		1 500
16		990
17		0.0
18		0.0
19		0.0
20		840
21		5 100
22		2 400
23		23 000
24		870
25		1 700
26		3 600
27		370
28		910
29		2 500
30		Соев шрот
31	Соев шрот	0.0

Всички останали проби са контаминирани с различни нива на фумонизини: 8 проби (№ 6, 9, 10, 16, 20, 24, 27, 28) (33,33%) са с нива от 500-1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 3 проби (№ 2, 13, 15) (12,5%) са с нива от 1000-1500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ и в 8 проби (№ 8, 11, 12, 14, 22, 25, 26, 29) (33,33%) фумонизиновите концентрации са в границите от 1500 – 5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Проби с номера 5, 7, 21 и 23 съдържат фумонизини в количества неколккратно превишаващи пределно допустимата концентрация (5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$), определена от Европейската комисия (ОВ (ЕС), 2006). Установената фумонизинова концентрация при проба № 23 (23 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$) е 4,6 пъти над допустимата, а при номера 5 и 7 (12 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$) – съответно 2,4 пъти, което ги прави извънредно опасни както за здравето и продуктивността на животните, така и за консуматорите на произведената животинска продукция.

При пробите от соев шрот (№ 30 и 31) не се доказва присъствие на фумонизини, което най-вероятно се дължи на микотоксикологичния контрол, провеждан от оторизираните Европейски институции при вноса му от САЩ и Бразилия в страните от Европейския съюз.

ДИСКУСИЯ

От проведения мониторинг за установяване нивата на фумонизинови концентрации в царевица и царевични продукти стана ясно, че не съществува еколого-географски район в България, в който да не се установява наличие на фумонизини в изследваните проби,

въпреки съществуващите различия в комплекса от екологични фактори, обуславящи тяхното образуване и натрупване. Най-високи средни стойности на количеството фумонизини се отчитат в северните части на страната, в традиционните зърнопроизводствени райони, като Търговишки (983,3 µg/kg), Велико търновски (739,2 µg/kg), Варненски (610 µg/kg) и Силистренски (616 µg/kg). В 8,22% от пробите царевично зърно концентрацията на фумонизини е над пределно допустимата концентрация за храни и продукти за човешка консумация (1000 µg/kg), съгласно Наредба № 31 на Министерство на здравеопазването (2004).

Сред различните царевични продукти, с най-високо ниво на фумонизиново замърсяване са комбинирани фуражи за прасета (до 23 000 µg/kg), вероятно поради включването в тях на царевични трици, при които е доказано, най-високо кумулиране на фумонизини, в сравнение с останалите царевични продукти (IARC, 2002). Друг важен фактор е използването на счупени или повредени царевични зърна за производството на комбинирани фуражи, при които е доказано значително по-високо съдържание на фумонизини, в сравнение със здравите зърна (Richard, 2007).

В 50% от пробите царевично брашно се установява концентрация на фумонизини (от 1100-1500 µg/kg) превишаваща ПДК (1000 µg/kg). Това е сигнал за нарушен контрол при производството на този продукт, който служи като основна съставка на редица зърнени храни, някои от които са предназначени за консумация от кърмачета и деца, където ПДК за фумонизини е 200 µg/kg (Наредба № 31 (МЗ), 2004; Регламент 1126/2007 (ЕС)).

Най-ниски са откритите концентрации на фумонизини при царевичният грис, което съвпада с изводите в изследванията на Katta *et al* (1997).

Вички изследвани проби от царевично нишесте са отрицателни по отношение наличието на фумонизини. Подобна зависимост се описва в Регламент № 1126/2007 на Европейския съюз, както и от редица други автори (Bolger *et al.*, 2001; Shephard, 2007). Според горепосочените източници, използваният процес на мокро смилане на царевичното зърно за получаване на царевично нишесте е основната причина за липсата или съвсем слабото присъствие на фумонизини в този продукт. Въпреки това, с цел опазване здравето на хората и животните, стопанските субекти в хранителната промишленост следва усилено да наблюдават страничните продукти, получени от процеса на мокрото смилане и предназначени за фуражи, за да се провери спазването на определените от ЕС норми.

ИЗВОДИ

В резултат на проведеното изследване могат да бъдат направени следните изводи:

Необходимо е да се провежда системен микологичен и микотоксикологичен мониторинг, обхващащ всеки етап от производството, прибирането, съхранението и преработката на царевичната и царевичните продукти.

На базата на горепосочения мониторинг да се разработят и внедрят биоинформационни модели, прогнозиращи риска от възникване на фузариумни инфекции и образуването на фузариумни микотоксини в основните зърнени култури през периодите на вегетация и съхранение, за да се гарантира тяхното качество и безопасност.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беев, Г. 2009. Микотоксикологична оценка на замърсяването на зърнени култури с микроскопични гъби от род *Fusarium* и техни микотоксини. Дисертация за присъждане на научна и образователна степен „Доктор”, шифър 01.06.12, Микробиология. Тракийски университет Стара Загора.
2. Наредба № 31. 2004. За максимално допустимите количества замърсители в храните. обн., ДВ, бр. 88 от 8 октомври 2004 г., изм., бр. 51 от 23 юни 2006 г.

3. Регламент (ЕО) № 1126 на Комисията. 2007. За определяне на максимално допустимите количества на някои замърсители в храните по отношение на *Fusarium* токсините в царевичата и царевичните продукти. Официален вестник на ЕС L 255/14.
4. Arino, A., J. Tereza, G. Estopanan and J. F. Gonzalez-Cabo. 2007. Natural Occurrence of *Fusarium* Species, Fumonisin Production by Toxigenic Strains, and Concentrations of Fumonisins B1 and B2 in Conventional and Organic Maize Grown in Spain. *J. Food Prot.* 70: 151-156.
5. Bakan B. 2001. Occurrence of toxigenic fungi and related mycotoxins in plants, food and feed in France. In: Logrieco A (ed). Occurrence of Toxigenic Fungi and Mycotoxins in Plants, Food and Feeds in Europe, European Commission, COST Action 835, EUR 19695, pp. 44–50.
6. Beev, G., S. Denev, and D. Pavlov. 2011. Occurrence and distribution of *Fusarium* species in wheat grain. *Agricultural Science and Technology*, 3(2): 165-168.
7. Bolger M, Coker RD, DiNovi M, Gaylor D, Gelderblom W, Olsen M, Paster N, Riley RT, Shephard G, Speijers GJA (2001). Fumonisins. In: Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food, WHO Food Additives Series 47, FAO Food and Nutrition Paper 74, Prepared by the 56th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), WHO, Geneva. P 103-279.
8. Bottalico, A. and A. Logrieco. 2001. Occurrence of toxigenic fungi and mycotoxins in Italy. In: Logrieco A (ed) Occurrence of Toxigenic Fungi and Mycotoxins in Plants, Food and Feeds in Europe, European Commission, COST Action 835, EUR 19695, pp. 69–104.
9. Bucci, T., D. K. Hansen and J. B. LaBorde. 1996. Leucoencephalomalacia and hemorrhage in the brain of rabbits gavaged with mycotoxin fumonisin B1. *Nat. Toxins* 4:51–52.
10. Caloni, F., M. Spotti, G. Pompa, F. Zucco, A. Stammati, and I. De Angelis. 2002. Evaluation of fumonisin B(1) and its metabolites absorption and toxicity on intestinal cells line Caco-2. *Toxicon* 40: 1181–1188.
11. Chelkowski J., J. Perkowski, J. Grabarkiewicz-Szczeńska, M. KostECKI and P. Golinski. 2001. Toxigenic fungi and mycotoxins in cereal grain and feeds in Poland. In Logrieco A. (Ed). Occurrence of toxigenic fungi and mycotoxins in plants, foods and feeds in Europe. European Commission, COST Action 835. EUR 19695, pp. 111-130.
12. Cvetnic, Z., S. Pepeljnjak and M. Sevgic. 2005. Toxigenic potential of *Fusarium* species isolated from non-harvested maize, *Arh Hig Rada Toksikol.* 56 (3):275 - 280.
13. Dragan, Y.P., W.R. Bidlack, S.M. Cohen. T.L. Goldsworthy. G.C. Hard. P.C. and Howard, R.T. Riley and K.A. Voss. 2001. Implications of apoptosis for toxicity, carcinogenicity and risk assessment: Fumonisin B1 as an example. *Toxicol. Sci.*, 61: 6–17.
14. Gelderblom, W.C.A., N.P.J. Kriek, W.F.O. Marasas, and P.G. Thiel. 1991, Toxicity and carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* metabolite, fumonisin B1, in rats. *Carcinogenesis*. 12: 1247-1251.
15. Gelderblom, W.C. A., K. Jaskiewicz, W.F.O. Marasas, P. G. Thiel, R. M. Horak, R. Vlegaar, and N. P. J. Kriek. 1988. Fumonisins- novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme* Appl. Environ. Microbiol. 54:1806–1811.
16. Gelderblom, W.C.A., S. Abel, C.M. Smuts, J. Marnewick, W.F.O. Marasas, E.R. Lemmer and D. Ramjak. 2001. Fumonisin-induced Hepatocarcinogenesis: Mechanisms related to cancer initiation and promotion. *Env. Health Perspectives*. 109: 291-300.
17. Harrison, L. R., B. M. Colvin, J. T. Greene, L. E. Newman, and J. R. Cole, 1990. Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1, a toxic metabolite of *Fusarium moniliforme*. *J. Vet. Diagn. Investig.* 2: 217-221.
18. IARC. 1993. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans vol. 56. Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France. pp.599.

19. Krska, R., E. Welzig and H. Boudr. 2007. Analysis of Fusarium toxins in feed. In: Morgavi, D.P., R.T. Riley (Eds.). Fusarium and their toxins: Mycology, occurrence, toxicity, control and economic impact. Anim. Feed Sci. Technol. 137: 241–264.
20. Logrieco, A., A. Bottalico, G. Mule, A. Moretti and G. Perrone. 2003. Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. Eur. J. Plant Pathol. 109: 645–667
21. Logrieco, A., Mule, G., Moretti, A., Bottalico, A., 2002. Toxigenic Fusarium species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe. Eur. J. Plant Pathol. 108: 597–609.
22. L'vova, L.S., I.B. Sedova, O.I. Kizlenko and V.A. Tutelyan. 2003. Production of Fumonisin by *Fusarium moniliforme* Strains Isolated from Corn Grain. Appl. Bioch. and Microbiol., 39, 2: 197-201.
23. Manova, R., and R. Mladenova. 2009. Incidence of zearalenone and fumonisins in Bulgarian cereal production. *Food Control*, 20(4): 362-365.
24. Marasas, W.F.O., P. E. Nelson, T.A. Toussoun. Toxigenic Fusarium Species Identity and Mycotoxicology. 1984. University Park. PA Pennsylvania State University Press.
25. Marasas, W. F. O., T. S. Kellerman, W. C. A. Gelderblom, J. A. W. Coetzer, P. G. Thiel, and J. J. Van Der Lugt. 1988. Leukoencephalomalacia in horse induced by fumonisin B1 isolated from *Fusarium moniliforme*. Onderstepoort J. Vet. Res. 55:197–203.
26. Marasas, W. F. O., J. D. Miller, R. T. Riley, and A. Visconti. 2001. Fumonisin-occurrence, toxicology, metabolism and risk assessment, p, 332–359. In B. A. Summerell, J. F. Leslie, D. Backhouse, W. L. Bryden, and L. W. Burgess (ed.), *Fusarium*. Paul E. Nelson Memorial Symposium. APS Press, St. Paul, Minn.
27. Nedelnik, J. 2000. Spectrum of Fusarium species and contamination with mycotoxins of corn in the Czech Republic. In: Abstracts of the 6th European Fusarium Seminar. Berlin 11–16 September. pp. 111–112.
28. Peito, A. and A. Venancio. 2004. An overview of mycotoxins and toxigenic fungi in Portugal. In A. Logrieco and A. Visconti (Eds). An overview of mycotoxins and toxigenic fungi in Europe. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. pp. 173-181.
29. Pittet, A. 1998. Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds – an updated review. *Revue Med. Vet.* 149: 479-492.
30. Rheeder, J. P., W. F. O. Marasas, P. G. Thiel, E. W. Sydenham, G. S. Shephard and D. J. van Schalkwyk. 1992. *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human oesophageal cancer in Transkei. *Phytopathology* 82: 353–357.
31. Rheeder, J. P., W. F. Marasas, and H. F. Vismar. 2002. Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:2102–2105
32. Sanchis V., M. Abadias, L. Oncins, N. Sala, I. Vinas and R. Canela. 1995. Fumonisin B1 and B2 and toxigenic *Fusarium* strains in feeds from the Spanish market. *International J. Food Microbiol.* 27: 37–44.
33. Schollenberger, M., Hans-Martin Müller, M. Rühle, S. Suchy, S. Plank and W. Drochner. 2005. Natural Occurrence of 16 *Fusarium* Toxins in Grains and Feedstuffs of Plant Origin from Germany. *Mycopathologia*, 161: 43-52.
34. Schollenberger, M., H. T. Jara, S. Suchy, W. Drochner and H.M. Muller. 2002. Fusarium toxins in wheat flour collected in an area in southwest Germany, *Int. J. Food Microbiol.* 72, 85.
35. Shephard GS, Westhuizen L, Sewram V. 2007. Biomarkers of exposure to fumonisin mycotoxins: a review. *Food Addit. Contam.* 24, 1196 – 1201.
36. WHO. 2002. Evaluation of certain mycotoxins in food. Fifty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 906. World Health Organisation, Geneva.