

BADANIA I OCENA BEZPIECZEŃSTWA SUROWCÓW ZIELARSKICH W ZAKRESIE ZANIECZYSZCZENIA AFLATOKSYNAMI

STUDIES AND SAFETY EVALUATION OF AFLATOXINS IN HERBAL PLANTS

*Ewa Ledzion, Krystyna Rybińska, Jacek Postupolski, Jolanta Kurpińska-Jaworska,
Małgorzata Szczęśna*

Zakład Badania Żywności i Przedmiotów Użytku
Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego - Państwowy Zakład Higieny, Warszawa

Słowa kluczowe: *aflatoksyny, surowce zielarskie, bezpieczeństwo żywności*
Key words: *aflatoxins, herbal plants, food safety*

STRESZCZENIE

Zioła i preparaty zielarskie są powszechnie stosowane w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym. Celem pracy była ocena surowców zielarskich w zakresie zanieczyszczenia aflatoksynami (AF), związkami o działaniu genotoksycznym, rakotwórczym i hepatotoksycznym, powodujących zaburzenia wzrostu oraz działających immunotoksycznie i alergicznie. Do oznaczania poziomu aflatoksyn (AF) zastosowano technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z uzyskiwaniem pochodnej po rozdziale na kolumnie w reakcji z nadbromianem bromowodorku pirydyny (PBPB). Ekstrakty oczyszczano na kolumnach powinowactwa immunologicznego (IAC). Zawartość aflatoksyn B₁, B₂, G₁ i G₂ zbadano w ponad 500 surowcach zielarskich, głównie krajowych z rejonu wschodniej Polski. Próbki były dostarczane przez producentów (zakłady zielarskie) w latach 2006-2010. W żadnej z ocenianych próbek nie stwierdzono poziomu aflatoksyn powyżej granic wykrywalności zastosowanych metod: dla AF B₁ - 0,2 µg/kg; AF B₂ - 0,03 µg/kg; AF G₁ - 0,3 µg/kg; AF G₂ - 0,03 µg/kg (PN-EN 14123) oraz dla AF B₁ - 0,15 µg/kg (Ph. Eur.6, 2008:2.8.18). Badane surowce zielarskie w zakresie zanieczyszczenia aflatoksynami należy uznać za bezpieczne, wskazuje to na stosowanie przez producentów zasad dobrej praktyki produkcyjnej podczas suszenia i przechowywania surowców.

ABSTRACT

Herbs and herbal products are commonly used in food and pharmaceutical industries. The aim of this study was to test herbal plants for contamination with aflatoxins (AF), genotoxic, cancerogenic and hepatotoxic compounds which can cause immunotoxic and allergic effects as well as growth disorders. Aflatoxins were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) with post column derivatization involving bromination with pyridinium hydrobromide perbromide (PBPB). Extracts was cleaned-up by immunoaffinity columns (IAC). The contents of aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ in more than 500 herbal plants samples mainly from Eastern Poland were investigated. Samples were supplied by manufacturers (herbal facilities) in 2006 – 2010 years. In all the evaluated samples the levels of aflatoxins above the detection limits of methods applied were not observed: for AF B₁ - 0.2 µg/kg; AF B₂ - 0.03 µg/kg; AF G₁ - 0.3 µg/kg; AF G₂ - 0.03 µg/kg (PN-EN 14123) and for AF B₁ - 0.15 µg/kg (Ph. Eur.6, 2008:2.8.18). All the herbal plants tested for contamination with aflatoxins should be considered safe, which indicates that manufacturers used good manufacturing practices during drying and storage of raw materials.

WSTĘP

Suszone surowce zielarskie powszechnie wykorzystywane są w przemyśle spożywczym do produkcji herbatek ziołowych, przypraw, suplementów diety oraz w przemyśle farmaceutycznym do wytwarzania produktów leczniczych. Zioła i preparaty zielarskie są powszechnie stosowane w terapiach wspomagających

medycynę konwencjonalną. Produkty te spożywane są niejednokrotnie codziennie, a wzrastające spożycie wynika z obecności w ich składzie związków biologicznie czynnych.

Dane piśmiennictwa wskazują, że w ziołach, roślinach leczniczych, herbatkach ziołowych stwierdza się zanieczyszczenie pleśniami. Wykrywano w nich również mikotoksyny: aflatoksyny, ochratoksynę

Adres do korespondencji: Jacek Postupolski, Zakład Badania Żywności i Przedmiotów Użytku, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny, 00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24, tel. 22 54 21 314, fax 22 54 21 392, e-mail: jpostupolski@pzh.gov.pl

A (OTA), fumonizyny (FB), zearalenonon (ZEA), co może stwarzać zagrożenie dla zdrowia ludzi. Z uwagi na powyższe, bezpieczeństwo tych produktów jest przedmiotem zainteresowania ośrodków naukowych, producentów, a także konsumentów [2, 3, 19, 21, 22].

W kraju liczne badania surowców zielarskich dotyczą mikoflory, brak natomiast szczegółowych danych odnoszących się do zanieczyszczenia tych surowców mikotoksynami. W ramach krajowego programu monitoringu w Zakładzie Badania Żywności i Przedmiotów Użytku NIZP-PZH w 2004 r. podjęto badania przypraw – papryki, pieprzu, chili, gałki muszkatołowej, kurkumy w zakresie zanieczyszczenia ochratoksyną A. We wszystkich (244) zbadanych próbkach pochodzących z obrotu detalicznego stwierdzono obecność OTA; najwyższy poziom oznaczono w próbce pieprzu mielonego z Wietnamu - 99,6 µg/kg, najwyższy średni poziom zanieczyszczenia w papryce wynosił 8,25 µg/kg [12].

Wyniki badań laboratoriów Państwowej Inspekcji Sanitarnej (PIS) potwierdzają te dane. W 2008 r. w ramach urzędowej kontroli PIS zakwestionowała około 4,4% zbadanych próbek przypraw z powodu nadmiernego zanieczyszczenia ich aflatoksynami. W sporadycznie badanych przyprawach, takich jak czosnek granulowany, koper suszony, kminek, anyż i gorczyca nie stwierdzano obecności AF i OTA na poziomach wyższych niż granice wykrywalności stosowanych metod.

Zanieczyszczenie środków spożywczych mikotoksynami jest przyczyną znacznej części powiadomień w europejskiej sieci Systemu Wczesnego Ostrzegania o Niebezpiecznej Żywności i Paszach (RASFF) i stanowi około 30%, w tym powiadomienia dotyczące zanieczyszczenia aflatoksynami - około 95% [9].

Aflatoksyny (AF) są metabolitami grzybów z rodzaju *Aspergillus*: *A. flavus*, *A. parasiticus* i *A. nominus*. W przyrodzie wytwarzanych jest co najmniej 13 różnych typów aflatoksyn. Są one genotoksyczne, rakotwórcze i hepatotoksyczne. Ich rakotwórcze działanie jest również związane z występowaniem wirusa HBV i HCV. Ponadto powodują zaburzenia wzrostu oraz wykazują działanie immunotoksyczne i alergenne. Za najbardziej toksyczną uważa się aflatoksynę B₁ (AF B₁), która łącznie z naturalnie występującymi aflatoksynami została zakwalifikowana przez Międzynarodową Agencję ds. Badań nad Rakiem (IARC) do grupy 1 – związków rakotwórczych dla człowieka [4].

Aflatoksyny są odporne na działanie temperatury, nie ulegają rozkładowi w czasie obróbki termicznej.

Dla zmniejszenia narażenia na mikotoksyny potencjalnie obecne w żywności w przepisach Unii Europejskiej ustanowiono najwyższe dopuszczalne poziomy dla aflatoksyn, ochratoksyny A, patuliny, zearalenonu, deoksyniwalenolu, fumonizyn w ziarnach zboż, innych surowcach roślinnych i przetworach, w produktach gotowych oraz przeznaczonych dla nie-

mowląt i małych dzieci. Wymaganiami objęte zostały także następujące przyprawy: *Capsicum spp.* (suszone owoce całe, mielone w tym papryka chili, mielone chili, pieprz kajeński), *Piper spp.* (pochodzące z niego owoce w tym biały i czarny pieprz), *Myristica fragrans* (gałka muszkatołowa), *Zingiber officinale* (imbir), *Curcuma longa* (kurkuma); najwyższy dopuszczalny poziom wynosi: AF B₁ – 5,0 µg/kg, suma AF B₁, B₂, G₁ i G₂ – 10 µg/kg, OTA – 30 µg/kg (od 01.07.2010 r. do 30.06.2012 r.); 15 µg/kg (od 01.07.2012r.) [17, 18]. Zgodnie z zasadą ALARA poziom zanieczyszczenia żywności mikotoksynami powinien być tak niski, jak to jest praktycznie możliwe.

W ustawodawstwie farmaceutycznym w państwach członkowskich UE w zakresie AF B₁ obowiązują wymagania Farmakopei Europejskiej (Ph. Eur.). W wielu krajach europejskich, w tym w Polsce, wydawane są jednocześnie Farmakopee narodowe, zawierające m.in. tłumaczone na język narodowy wymagania zawarte w Ph. Eur. oraz w innych monografiach. Stosowanie wymagań farmakopealnych wynika z postanowień prawa farmaceutycznego [23]. W substancjach roślinnych, wykorzystywanych jako surowce w przemyśle farmaceutycznym, zawartość AF B₁ nie może przekraczać 2 µg/kg [5, 6].

Celem pracy było zbadanie i ocena surowców zielarskich w zakresie zanieczyszczenia aflatoksynami.

MATERIAŁ I METODY

W Laboratorium Zakładu Badania Żywności i Przedmiotów Użytku NIZP-PZH w latach 2006-2010 zbadano 519 próbek surowców zielarskich w kierunku zanieczyszczenia aflatoksynami. próbki były dostarczone przez producentów - zakłady zielarskie. Większość surowców pochodziła z różnych rejonów wschodniej Polski, nieliczne były importowane. Asortyment i liczbę zbadanych próbek przedstawia tabela 1.

Do oznaczania poziomu aflatoksyn (AF) zastosowano technikę wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z oczyszczaniem na kolumnach powinowactwa immunologicznego (IAC), która jest obecnie uznawana za metodę z wyboru [1, 20].

Zawartość aflatoksyn B₁, B₂, G₁ i G₂ (511 próbek) oznaczano metodą wg PN-EN 14123, a w 2010 r. oznaczanie poziomu aflatoksyny B₁ (8 próbek) wykonywano także metodą zgodnie z Ph. Eur.6, 2008:2.8.18 [5, 6, 7, 10].

Metody analityczne stosowane do oznaczania aflatoksyn zostały sprawdzone i zwalidowane. Wyznaczono granicę wykrywalności, oznaczalności, zakres roboczy, liniowość, czułość, poprawność, powtarzalność, odzysk i niepewność. Ich charakterystykę przedstawiono w tabeli 2. Spełniają one kryteria skuteczności ustalone dla

Tabela 1. Asortyment i liczba zbadanych próbek surowców zielarskich
Type of herbal plants and number of tested samples

Surowiec	Liczba próbek	Surowiec	Liczba próbek	Surowiec	Liczba próbek
cetyna sosnowa	6	kwiat wiaźówki	2	owoc róży	6
kłącze kurkumy	5	kwiatostan głogu	8	owocnia fasoli	5
kłącze pluskwicy groniastej	3	kwiatostan kocanek	2	owocnia fasoli indyjskiej	3
kłącze pięciornika	5	kwiatostan lipy	13	owocnia pomarańczy gorzkiej	2
kora dębu	6	liść babki lancetowatej	7	porost islandzki	5
kora wierzby	5	liść bobrka	5	suszone trawy	3
kora kruszyny	7	liść borówki brusznicy	6	szyszki chmielu	8
korzeń arcydzięgla	7	liść brzozy	7	wytłoki jabłkowe	4
korzeń buraka	3	liść jeżyny	5	ziele dziurawca	10
korzeń goryczki	7	liść melisy	10	ziele drapacza	2
korzeń kozłka lekarskiego	8	liść mięty pieprzowej	11	ziele fiołka trójbarwnego	7
korzeń lukrecji	5	liść orzecha włoskiego	2	ziele glistnika	2
korzeń łopianu	5	liść pokrzywy	9	ziele gryki	3
korzeń mniszka	5	liść podbiału	2	ziele macierzanki	4
korzeń mydlnicy	7	liść rozmarynu	2	ziele hyzopu	3
korzeń omanu	4	liść senesu	8	ziele melisy	5
korzeń podróżnika	8	liść szalwii	9	ziele karczocha	5
korzeń prawoślazu	9	liść topoli	3	ziele krwawnika	5
korzeń pokrzywy	5	morszczyn	4	ziele męczennicy	3
korzeń rzewienia	7	nasiona kasztanowca	3	ziele mięty pieprzowej	4
koszyczek arniki	2	nasiona kozieradki	4	ziele mniszka	3
korzeń wilżyny	3	nasiona lnu	11	ziele mniszka z korzeniem	3
koszyczek nagietka	5	nasiona płesznika	3	ziele nostrzyka	8
koszyczek rumianku pospolitego	11	owoc anyżu	9	ziele pięciornika	2
kwiat dziewanny	3	owoc borówki czernicy	12	ziele piołunu	9
kwiat bzu czarnego	7	owoc bzu czarnego	9	ziele rdestu ptasiego	2
kwiat hibiskusa	4	owoc głogu	2	ziele skrzypu	7
kwiat jasnoty	2	owoc kminku	7	ziele serdecznika	5
kwiat kasztanowca	4	owoc kopru włoskiego	11	ziele szanty	3
kwiat krwawnika	5	owoc pasternaku	3	ziele świetlika	6
kwiat lawendy	14	owoc tarniny	2	ziele tymianku	5
kwiat nagietka	2	owoc porzeczki czarnej	4	ziele rzepiku	3

metod analitycznych wymagane w urzędowej kontroli żywności w zakresie mikotoksyn [16].

Tabela 2. Charakterystyka metod analitycznych
Characteristic of analytical methods

Parametr	Metoda wg PN-EN 14123:2008				Ph.Eur.6, 2008:2.8.18
	AF B ₁	AF B ₂	AF G ₁	AF G ₂	AF B ₁
Granica wykrywalności LOD (µg/kg)	0,2	0,03	0,3	0,03	0,15
Granica oznaczalności LOQ (µg/kg)	0,4	0,05	0,7	0,06	0,3
Powtarzalność RSD (%)	10,3	9,5	9,1	19,8	4,1
Odzysk (%)	94,4	73,1	91,2	57,8	81,9
Niepewność rozszerzona (%)	11	16	12	39	19,1

Metody te zostały akredytowane wg PN-EN-ISO/IEC 17025. Laboratorium Zakładu Badania Żywności

i Przedmiotów Użytku NIZP-PZH posiada certyfikat Polskiego Centrum Akredytacji Nr AB 509 [11].

Do analizy zawartości AF w badanych próbkach na etapie ekstrakcji, oczyszczania stosowano odczynniki o czystości do analizy, natomiast do eluowania i analizy chromatograficznej – o czystości do HPLC; woda – oczyszczana metodą podwójnej osmozy, wzorce AF - firmy Romer Labs Diagnostic GmbH.

Próbkę analityczną ekstrahowano roztworem rozpuszczalnika (metanol-woda). Ekstrakt próbki przesączano, następnie rozcieńczano buforem fosforanowym w soli fizjologicznej. Po ponownym przesączeniu nanszono na kolumnę powinowactwa immunologicznego, zawierającą przeciwciała specyficzne wobec aflatoksyn B₁, B₂, G₁ i G₂.

Po wyeluowaniu aflatoksyn metanolem oznaczano ich zawartość metodą HPLC z zastosowaniem rozdzielania w układzie faz odwróconych z uzyskiwaniem pochodnych i detekcją fluorescencyjną.

Pochodne AF po rozdzieleniu na kolumnie otrzymywano w reakcji z nadbromianem bromowodoru

pirydyny (PBPB). Jako fazę ruchomą stosowano mieszaninę metanolu, acetonitrylu i wody w stosunku objętościowym 28:19:53. Do rozdzielania wykorzystywano kolumnę typu C18, 5 µm, 100 Å, 250 mm x 4,6 mm (Symmetry, Waters).

W ramach prowadzonej kontroli jakości oznaczeń z próbkami badanymi regularnie analizowano próbki wzbogacone i sprawdzano odzysk.

WYNIKI I DYSKUSJA

W żadnej ze zbadanych 519 próbek surowców zielarskich nie stwierdzono poziomu aflatoksyn powyżej granic wykrywalności zastosowanych metod, wynoszących: dla AF B₁ - 0,2 µg/kg; AF B₂ - 0,03 µg/kg; AF G₁ - 0,3 µg/kg; AF G₂ - 0,03 µg/kg (wg PN-EN 14123) oraz dla AF B₁ - 0,15 µg/kg (Ph. Eur.6, 2008:2.8.18).

Romagnoli B. i wsp. również nie stwierdzali zawartości AF B₁, B₂, G₁, G₂ powyżej granic wykrywalności (0,5 µg/kg dla AF B₁ i AF G₁, 0,2 µg/kg dla AF B₂ i AF G₂) w próbkach herbatek ziołowych, roślinach leczniczych i ziołach pobieranych na terenie Włoch [15]. *Abou-Arab* i wsp. nie wykrywali mikotoksyn w suszu mięty, rumianku, lipy, anyżu i kminku, pomimo wyizolowania grzybów toksynotwórczych *Aspergillus flavus*, *A. candidus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. terreus*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*, *Alternaria spp.* [2]. Autorzy wysunęli hipotezę, że surowce zielarskie nie są środowiskiem sprzyjającym wytwarzaniu mikotoksyn sugerując, że obecność olejków eterycznych może hamować proces biosyntezy tych związków. Stwierdzano hamujące w różnym stopniu działanie niektórych olejków lub ekstraktów roślinnych np. z *Trachyspermum ammi*, *Cinnamomum camphora*, *Thymus vulgaris*, *Citrus aurantifolia*, *Mentha spicata* na wzrost pleśni oraz wytwarzanie aflatoksyn [13, 19, 24]. *Razak* i wsp. zaobserwowali, że mieszaniny ekstraktów roślinnych efektywniej hamowały produkcję aflatoksyn niż pojedyncze ekstrakty [14].

Tassaneeyakul i wsp. badając produkty lecznicze, zawierające zioła, w niektórych z nich stwierdzali zawartość aflatoksyn powyżej granicy wykrywalności stosowanej metody tj. 1,7 µg/kg, najwyższy poziom wynosił 14,3 µg/kg. Tropikalny klimat Tajlandii oraz niewłaściwe przechowywanie surowców sprzyja wzrostowi pleśni. Obecność AF mogła być związana z zanieczyszczeniem pleśniami surowców zielarskich, a także innych składników roślinnych, np. skrobi, znajdujących się w przedmiotowych preparatach [21].

Podwyższona temperatura i wilgotność względna powodują intensywniejszy wzrost grzybów; zanieczyszczenie aflatoksynami może być ograniczane poprzez kontrolowanie tych parametrów w czasie przechowywania [8]. Wiadomo jest także, że niektóre pleśnie

produkują mikotoksyny nawet w niesprzyjających ich rozwojowi warunkach.

WNIOSKI

1. W żadnej ze zbadanych 519 próbek surowców zielarskich nie stwierdzono zawartości aflatoksyn B₁, B₂, G₁, G₂ powyżej granic wykrywalności tj. dla AF B₁ - 0,2 µg/kg; AF B₂ - 0,03 µg/kg; AF G₁ - 0,3 µg/kg; AF G₂ - 0,03 µg/kg (wg PN-EN 14123) oraz dla AF B₁ - 0,15 µg/kg (Ph. Eur.6, 2008:2.8.18). Zastosowane zwalidowane metody analityczne spełniały wymagane kryteria skuteczności.
2. Badane surowce zielarskie w zakresie zanieczyszczenia aflatoksynami należy uznać za bezpieczne. Wskazuje to na stosowanie przez producentów zasad dobrej praktyki produkcyjnej podczas suszenia i przechowywania surowców.

PIŚMIENNICTWO

1. *Arranz I., Sizoo E., van Egmond H., Kroeger K., Legarda TM., Burdaspal P., Reif K., Stroka J.*: Determination of aflatoxin B1 in medicinal herbs: interlaboratory study. J. AOAC. 2006, 89, 3, 595-605.
2. *Abou-Arab A.A.K., Soliman Kawther M., Tantawy M.E.-El, Ismail Badeaa R., Khayria N.*: Quantity estimation of some contaminants in commonly used medicinal plants in the Egyptian market. Food Chemistry 1999, 67, 357-363.
3. *Halt M.*: Moulds and mycotoxins in herb tea and medicinal plants. Eur. J. Epidemiol. 1998, 14, 269-274.
4. International Agency Research on Cancer (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. IARC, Lyon, 1993, 397-433.
5. European Pharmacopoeia. 6,0. EDQM. Strasbourg, 2007, 2.8.18, 256-257.
6. Farmakopea Polska. VII, Suplement. Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych. Warszawa, 2007. 2.8.18, 1413-1414.
7. Farmakopea Polska. VIII. Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych. Warszawa. 2008. 2.8.18, 232.
8. *Kulshrestha R., Gupta CP., Shukla G., Kundu MG., Bhatnagar SP., Katiyar CK.*: The effect of water activity and storage temperature on the growth of *Aspergillus flavus* in medicinal herbs. Planta Med. 2008, 74, 10, 1308-15.
9. *Ledzion E., Postupolski J., Rybińska K., Kurpińska-Jaworska J., Szczęśna M., Karłowski K.*: System RASFF jako element strategii bezpieczeństwa żywności w zakresie mikotoksyn. Bromat. Chem. Toksykol. 2010, 43, 533-538.

10. PN-EN 14123:2008 Artykuły żywnościowe. Oznaczanie aflatoksyny B₁ oraz sumy aflatoksyn B₁, B₂, G₁ i G₂ w orzechach laskowych, orzechach ziemnych, pistacjach, figach i papryce w proszku. Metoda wysokosprawnej chromatografii cieczowej z uzyskiwaniem pochodnej po rozdzieleniu na kolumnie i oczyszczaniu na kolumnie powinowactwa immunologicznego.
11. PN-EN ISO/IEC 17025:2005 Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących.
12. *Postupolski J., Rybińska K., Ledzion E., Kurpińska-Jaworska J., Szczęsna M., Karłowski:* Zanieczyszczenie mikotoksynami wybranych środków spożywczych. W: Ocena narażenia konsumentów na chemiczne i mikrobiologiczne zanieczyszczenia żywności – programy realizowane w latach 2004-2008. Pod. red. *K. Karłowskiego, K. Rybińskiej, J. Postupolskiego.* NIZP-PZH, Warszawa 2010, 71-84.
13. *Razzaghi-Abyaneh M., Shams-Ghahfarokhi M., Rezaee M.B.:* Chemical composition and antiaflatoxic activity of *Carum carvi* L, *Thymus vulgaris* and *Citrus aurantifolia* essential oils. *Food Control* 2009, 20, 1018-1024.
14. *Razak M.F.A. Aidoo K.E., Candlish A.G.G.:* Mixed herbs drugs: inhibitory effect on growth of the endogenous mycoflora and aflatoxin production. *Mycopathologia* 2009, 167, 273-286.
15. *Romagnoli B., Menna V., Gruppioni N., Bergamini C.:* Aflatoxins in spices, aromatic herbs, herb-teas and medicinal plants marketed in Italy. *Food Control* 2007, 18, 697-701.
16. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 401/2006 z dnia 23 lutego 2006 r. ustanawiające metody pobierania próbek i analizy do celów urzędowej kontroli poziomów mikotoksyn w środkach spożywczych Dz.Urz. UE, L 70 z 9.3.2006
17. Rozporządzenie Komisji (UE) nr 105/2010 z dnia 5 lutego 2010 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych w odniesieniu do ochratoxyny A. Dz. Urz. UE, L 35 z 6.2.2010.
18. Rozporządzenie Komisji (UE) nr 165/2010 z dnia 26 lutego 2010 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych w odniesieniu do aflatoksyn. Dz. Urz.UE, L 50 z 27.2.2010.
19. *Singh P., Srivastava B., Kumar A., Dubey N.K.:* Fungal contamination of raw materials of some herbal drugs and recommendation of *Cinnamomum camphora* oil as herbal fungitoxicant. *Microb. Ecol.* 2008, 56, 555-560.
20. *Siu-Po I., Chun-Tao Ch.:* Determination of aflatoxin in Chinese medicinal herbs by high-performance liquid chromatography using immunoaffinity column cleanup. Improvement of recovery. *J. Chromatogr.* 2006, 1135, 241-244.
21. *Tassaneeyakul W., Razzazi-Fazeli E., Porasuphatana S., Bohm J.:* Contamination of aflatoxins in herbal medicinal products in Thailand. *Mycopathologia* 2004, 158, 239-244.
22. *Trucksess MW, Scott PM:* Mycotoxins in botanicals and dried fruits: a review. *Food Addit. Contam.* 2008, 25, 181-92.
23. Ustawa z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne. Dz.U. z 2008, Nr 45, poz. 271 (tekst jednolity)
24. *Velazhahan R., Vijayanandraj S., Vijayasamundeeswari A.:* Detoxification of aflatoxins by seed extracts of the medicinal plant, *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague ex Turrill – Structural analysis and biological toxicity of degradation product of aflatoxin G₁. *Food Control* 2010, 21, 719-725.

Otrzymano: 15.07.2011

Zaakceptowano do druku: 29.09.2011

