

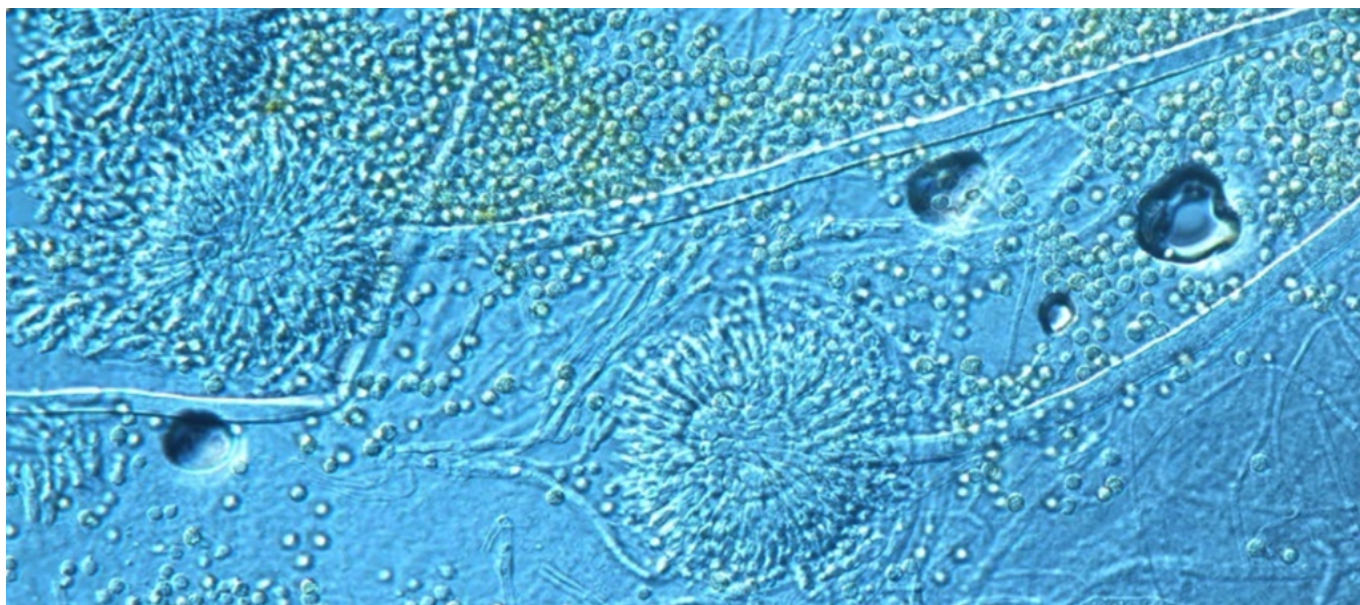
# SCI CELL

**ODBORNÝ MAGAZÍN**  
WWW.SCICELL.ORG

# 2024

ISSN 2585-9137  
Vydavateľstvo SciCell





## Možnosti aplikácie kvasiniek pri eliminácii aflatoxínov

Publikované 3. mája 2023

**Veronika Vojčíková<sup>1</sup>, Miroslava Hlebová<sup>1</sup>, Lukáš Hleba<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Univerzita Svätého Cyrila a Metoda v Trnave, Fakulta prírodných vied

<sup>2</sup>Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Fakulta biotechnológie a potravinárstva

### Charakteristika aflatoxínov a význam ich prítomnosti v potravinách

Aflatoxíny sú sekundárne toxické metabolity produkované mikroskopickými vláknitými hubami, najmä druhmi *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* alebo *A. nomius*. K ich produkcii dochádza prevažne vo vlhkých a teplých podmienkach, pričom kontaminujú širokú škálu poľnohospodárskych komodít ako sú arašidy, kukurica, obilniny, ryža a mnohé ďalšie. Ku kontaminácii plodín aflatoxínmi dochádza prevažne po zbere úrody, počas nepriaznivých skladovacích podmienok. Doteraz bolo popísaných približne 20 aflatoxínov, pričom AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> a AFG<sub>2</sub>, sú z hľadiska toxicity a distribúcie v potravinárskych komoditách najvýznamnejšie. Všetky tieto zlúčeniny pôsobia ako silné karcinogény a preto boli Medzinárodnou agentúrou pre výskum rakoviny, zaradené do skupiny 1 „karcinogénne pre ľudí“. Okrem iného patria aflatoxíny medzi teratogény a majú cytotoxický, imunosupresívny, nefrotoxický a génotoxický účinok. Najväčšia pozornosť, je venovaná práve AFB<sub>1</sub>, ktorého toxický charakter je spôsobený prítomnosťou laktónového a difuranového kruhu. Okrem negatívneho vplyvu aflatoxínov na zdravie ľudí a zvierat, sú s aflatoxínovou kontamináciou spájané aj vysoké ekonomické straty v poľnohospodárstve. Odhaduje sa, že práve kvôli mykotoxínom, ku ktorým aflatoxíny patria, dochádza každoročne ku strate 25 % svetových zásob poľnohospodárskych produktov. Práve z tohto dôvodu bolo potrebné vyvinúť určité metódy odstraňovania aflatoxínov z potravín.

### Metódy eliminácie aflatoxínov v potravinách

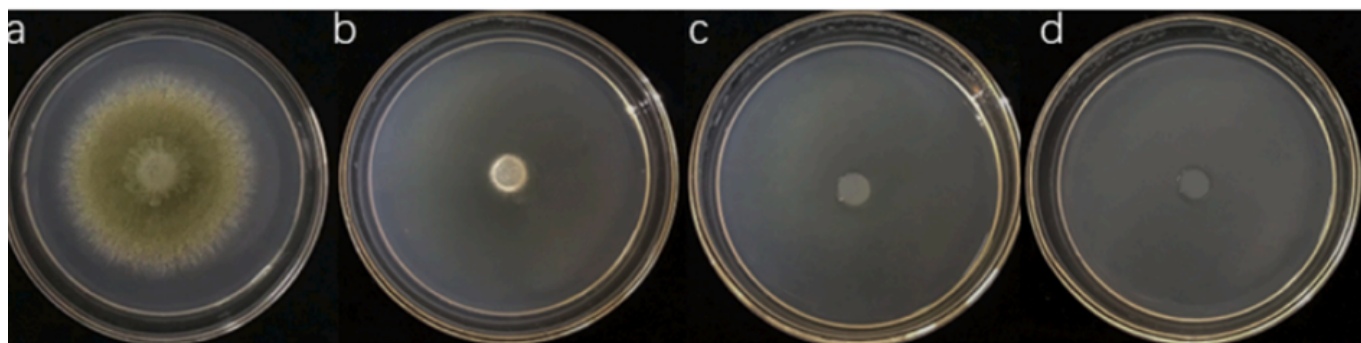
Nakoľko aflatoxíny predstavujú značné zdravotné riziká a spôsobujú obrovské ekonomické straty v poľnohospodárstve a potravinárstve, boli vytvorené rôzne metódy ich eliminácie. Pokusy o odstraňovanie aflatoxínov z potravinárskych komodít, sú však značne obmedzené. Je to spôsobené práve štruktúrou aflatoxínov, ktoré sú nebielkovinovej povahy a odolávajú vysokým teplotám, nízkym hodnotám pH a mnohým ďalším environmentálnym faktorom. V súčasnosti existuje množstvo rôznych metód eliminácie aflatoxínov, pričom k tým hlavným patria:

- fyzikálne metódy eliminácie
- chemické metódy eliminácie
- biologické metódy eliminácie.

V posledných rokoch bola preferovaná najmä aplikácia fyzikálnych metód ako je mechanické triedenie, vplyv vysokých teplôt alebo žiarenia. Po nich boli vyvinuté chemické metódy eliminácie, ktoré zahŕňajú aplikáciu organických a anorganických kyselín, oxidačných činidiel, zásad a mnohých ďalších. K nevýhodám týchto eliminačných metód však patrí pomerne nízka účinnosť a negatívny dopad na sensorické a nutričné vlastnosti potravín. Z tohto dôvodu bolo potrebné vyvinúť nové, ale najmä účinnejšie spôsoby eliminácie aflatoxínov. V tejto súvislosti, sa ako zaujímavé riešenie javí práve biologická eliminácia aflatoxínov, s využitím rôznych mikroorganizmov alebo ich sekundárnych metabolitov. Širokú aplikáciu v odstraňovaní aflatoxínov z potravín a krmív predstavujú napríklad kvasinky, ktoré majú oproti baktériám a mikroskopickým vláknitým hubám výhodu v tom, že neprodukujú žiadne iné toxické metabolity pre človeka alebo zvieratá. K ďalším výhodám aplikácie kvasiniek, patrí aj vysoká účinnosť dekontaminácie, minimálny dopad na životné prostredie a nízke náklady spájané s ich použitím. Princíp ich aplikácie spočíva buď v prevencii produkcie aflatoxínov, prostredníctvom aplikácie biokontrolných kvasiniek alebo ich sekundárnych metabolitov - „killer toxínov“ a prchavých organických zlúčenín. Ich účinok spočíva v inhibícii rastu mikroskopickej vláknitej huby alebo v inhibícii produkcie mykotoxínu mikroskopickou vláknitou hubou. Ďalšou možnosťou aplikácie kvasiniek je biodegradácia aflatoxínov, za vzniku menej toxických alebo netoxických produktov. V tomto procese zohrávajú hlavnú úlohu predovšetkým intracelulárne alebo extracelulárne metabolity kvasiniek ako sú enzýmy. Inou možnosťou je aj aplikácia kvasiniek ako tzv. bioadsorbentov, schopných viazať aflatoxíny z prostredia, na základe unikátnej štruktúry ich bunkovej steny.

### Prchavé organické zlúčeniny ako nástroj biokontroly

Pri kontrole fungálnych patogénov a ich mykotoxínov, sa používajú rôzne biokontrolné kvasinky alebo ich sekundárne metabolity. Mnohé kvasinky napríklad dokážu produkovať prchavé organické zlúčeniny (Volatile organic compounds - VOCs), ktoré možno použiť ako biokontrolné činidlá proti aflatoxigénnym hubám a ich mykotoxínom. Prchavé organické zlúčeniny, sú zlúčeniny na báze uhlíka, s nízkou molekulovou hmotnosťou, ktoré sa vďaka svojej povahe jednoducho šíria v prostredí. Zaradujeme k nim rôzne zlúčeniny, vrátane kyselín, esterov (etylpropionát, n - propylacetát, izobutylacetát, 2 - izobutylacetát, 2 - fenylacetát), ketónov (heptán - 2 - ón, acetylbenzén), aromatických zlúčenín, alkoholov (2 - fenyletanol, benzylalkohol), uhlíkovodíkov iných. Ich význam spočíva práve v biologickej kontrole fytopatogénov ako sú aj aflatoxinogénne mikroskopické vláknité huby a ich mykotoxíny. Významný antifungálny a antiaflatoxinogénny vplyv majú napríklad prchavé organické zlúčeniny produkované kvasinkou druhu *Saccharomyces cerevisiae* NJ - 1, ktoré ako hlavnú prchavú organickú látku, produkujú 3 - metyl - 1 - butanol. Táto zlúčenina dokáže účinne inhibovať rast aj sporuláciu mikroskopickej vláknitej huby rodu *Aspergillus flavus*, už po 6 hodinách spoločnej kultivácie. Okrem iného, sú tieto prchavé organické zlúčeniny, schopné účinne inhibovať expresiu génu zodpovedného za produkciu aflatoxínu B<sub>1</sub>.



**Obrázok 1:** Vplyv prchavých organických zlúčenín, produkovaných kvasinkou druhu *S.cerevisiae* NJ - 1, na rast mycélia a sporuláciu mikroskopickej vláknitej huby druhu *A. flavus* po **a** - 0, **b** - 4, **c** - 8, **d** - 12 hodinách (zdroj: Yang et al., 2023).

Medzi iné významné prchavé organické zlúčeniny, produkované kvasinkami, patrí aj 2 - fenyletanol, ktorý dokáže znižovať koncentráciu AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>1</sub> a AFG<sub>2</sub> v rozmedzí od 56 - 100 %. Mechanizmus účinku 2 - fenyletanolu spočíva v inhibícii klíčenia spór a rastu mikroskopickej vláknitej huby druhu *A. flavus* a inhibícii expresie génov *hdaA* a *rpda* z *A. flavus*, čím dochádza aj k potlačeniu syntézy aflatoxínov. Kvasinka druhu *Kwoniella heveanensis* DMKU - CE82, dokáže produkovať 4 rôzne typy prchavých organických zlúčenín, ktoré priamo inhibujú rast mikroskopickej vláknitej huby druhu *A. flavus* a tiež inhibujú aj produkciu AFB<sub>1</sub> v zrnách kukurice. Najväčší podiel prchavých organických zlúčenín s antagonistickým účinkom dokázala kvasinka vyprodukovať v teplotnom rozmedzí 30 - 35 °C, pri 98 % relatívnej vlhkosti vzduchu. Kvasinka produkuje celkovo 4 hlavné prchavé organické zlúčeniny - kyselina izovalerová, 2 - metyl - 1 - butanol, 3 - metyl - 1 - butanol a 1,1 - dimetylhydrazín. Všetky testované prchavé organické zlúčeniny produkované kvasinkou dokážu znížiť produkciu AFB<sub>1</sub> v závislosti od rôznych nastavení teploty a vlhkosti v rozmedzí od 76 - 85 %. Taktiež dokážu potlačiť rast a sporuláciu mycélia mikroskopickej vláknitej huby druhu *A. flavus*. K ďalším prchavým organickým zlúčeninám, ktoré majú antifungálny, antisporelačný a antiaflatoxinogénny charakter patria tiež acetaldehyd, etylacetát, 1 - propanol, 2 - metyl - 1 - propanol, kyselina octová, a iné. Pričom väčšina prchavých organických zlúčenín pracuje synergicky.

### Kvasinkové „Killer toxíny“

K iným zaujímavým metabolitom, ktoré kvasinky dokážu produkovať určite patria aj tzv. „killer toxíny“. Z hľadiska chemickej štruktúry sa jedná o proteíny, ktoré sú schopné rozpoznávať a viazať sa na špecifické receptory cieľovej bunky a následne ju usmrtiť. V dnešnej dobe je popísaných približne 100 rôznych druhov „killer“ kvasiniek, ako sú napríklad *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia anomala*, *Pichia membranifaciens*, *Kluyveromyces lactis*, *Metschnikowia pulcherrima*. Zaujímavé je, že killer toxíny produkované kvasinkami je možné aplikovať nie len v biokontrolle rastlinných patogénov alebo mykotoxínov, ale aj v humánnej terapii. Aj napriek širokým možnostiam ich aplikácie, je v dnešnej dobe väčšina killer toxínov a mechanizmus ich pôsobenia pomerne neprebádanou oblasťou. Medzi najvýznamnejšie kvasinkové killer toxíny vzhľadom na ich genetické, biochemické

vlastnosti a účinnosť sú K1, K2 a K28, produkované *Saccharomyces cerevisiae*, PMKT a PMKT2 z *Pichia membranifaciens*, zymocín z *Kluyveromyces lactis*, PaKT z *Wickerhamomyces anomalus*, Kpkt z *Tetrapisispora phaffii* a HM - 1 z *Cyberlindnera mrakii*. Okrem inhibície rastu aflatoxinogénnych mikroskopických húb, dokážu spomínane killer toxíny inhibovať aj rast iných mikroskopických vláknitých húb. Ich účinok spočíva nie len v deštrukcii bunkovej steny cieľového organizmu, ale aj v degradácii DNA a inhibícii bunkového cyklu mikroskopických vláknitých húb. Killer toxíny produkované kvasinkami druhu *Wickerhamomyces anomalus* a *Torulaspora delbrueckii* dokážu účinne inhibovať rast aflatoxinogénnej mikroskopickej huby druhu *A. flavus*, v závislosti od teploty. Najvyšší inhibičný potenciál dosahujú vyprodukované killer toxíny pri teplote 30 °C a naopak žiadny

inhibičný potenciál neprejavujú pri teplotách nižších ako je 15 °C. Okrem teploty, ovplyvňuje účinok killer toxínov aj hodnota pH. Pri nižšom pH ich schopnosť eliminovať *A. flavus* stúpa, naopak so zvyšujúcim sa pH prostredia, táto schopnosť klesá. Význam aplikácie killer toxínov však spočíva skôr v prevencii produkcie mykotoxínov, nakoľko killer toxíny, nedokážu priamo degradovať mykotoxíny. Ich účinok spočíva v eliminácii mikroskopických vláknitých húb, prostredníctvom narušenia integrity ich bunkovej steny, čím sa zabráni aj potenciálnej produkcii mykotoxínov.

## Degradácia a biotransformácia

Medzi ďalšie zaujímavé metódy odstraňovania aflatoxínov z potravín a krmív patrí aj biodegradácia alebo biotransformácia. Väčšina kvasiniek je schopných produkovať rôzne enzýmy, ktoré zohrávajú kľúčovú úlohu v degradácii aflatoxínov. Mnohé enzýmy produkované kvasinkami následne narušajú toxickú štruktúru aflatoxínov, za vzniku menej toxických alebo netoxických zlúčenín. Prvá zmienka o mikrobiálnej degradácii AFB<sub>1</sub> bola publikovaná ešte v roku 1966 a od tejto doby sa enzymatickou degradáciou aflatoxínov, začalo zaoberať mnoho ďalších štúdií. Avšak len niekoľko z nich odhalilo aj pravé produkty degradácie aflatoxínov a preverilo ich toxicitu. Vo všeobecnosti rozlišujeme 2 hlavné spôsoby detoxikácie AFB<sub>1</sub>. Prvou možnosťou je narušenie difuranového kruhu molekuly, alebo druhá možnosť – narušenie kumarínovej štruktúry AFB<sub>1</sub>. K významným enzýmom, ktoré sú schopné degradovať aflatoxíny alebo aflatoxinogénne mikroskopické vláknité huby, patria mnohé hydrolytické enzýmy ako je napríklad  $\beta$  - 1,3 - glukánáza, chitináza, amyláza, celulóza, mangánová peroxidáza a mnohé iné. Zaujímavý potenciál v degradácii AFB<sub>1</sub> ma napríklad lakáza zo *Saccharomyces cerevisiae*, ktorá dokáže účinne znížiť koncentráciu AFB<sub>1</sub>, až o 91 %. Pri degradácii AFB<sub>1</sub>, pritom dochádza k narušeniu kľúčových toxických skupín mykotoxínu – dvojitej väzby v rámci difuranového kruhu a k narušeniu laktónového kruhu v kumarínovej časti molekuly. Výsledkom enzymatickej degradácie je vznik 4 hlavných degradačných produktov (C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>, C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub>, C<sub>7</sub>H<sub>16</sub>N<sub>6</sub>O a C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub>), ktoré vykazujú po testoch na potkaních hepatocytoch minimálny toxický účinok. Kvasinky ako *Saccharomyces cerevisiae* RC016, *S. boulardii* RC009 a *Kluveromyces marxianus* VM003, dokážu účinne znížiť koncentráciu AFM<sub>1</sub> v mlieku v rozmedzí od 30 – 70 % počas 24 hodín. Po 48 hodinách koinkubácie, sú všetky kvasinky schopné degradovať minimálne 80 % AFM<sub>1</sub> v mlieku, za vzniku rôznych degradačných produktov. Všetky produkty degradácie pritom nevykazujú žiadny cytotoxický efekt. Kvasinky izolované z bachorovej tekutiny dobytká – *K. marxianus* a *P. kudriavzevii*, dokážu degradovať AFB<sub>1</sub> v rozmedzí od 86 – 93 % už po 12 hodinách v *in vitro* podmienkach. Kvasinka druhu *Candida tropicalis* MY115, napríklad dokáže zdegradovať až 77 % AFB<sub>2</sub> prítomného v obilnej kaši.

## Kvasinky v úlohe bioadsorbentov

Niektoré druhy kvasiniek dokážu okrem inhibície a degradácie mykotoxínov, tiež aflatoxíny účinne viazať. Táto schopnosť vyplýva predovšetkým z unikátnej štruktúry ich bunkovej steny, ktorá je tvorená vonkajšou vrstvou pozostávajúcou z manoproteínov a vnútornou vrstvou tvorenou  $\beta$  - glukánovými reťazcami spojenými s chitínom a manoproteínmi. Ku kľúčovým komponentom pre bioadsorbciu aflatoxínov patria práve hydroxylová skupina  $\beta$  - 1,3 - glukánu, ktorá sa viaže s hydroxylovou, ketónovou alebo laktónovou skupinou aflatoxínu a následne  $\beta$  - 1,6 - glukány, posilňujú stabilitu tohto komplexu prostredníctvom van der Waalsových síl. Zásadnú rolu v tomto mechanizme plní práve hrúbka vrstvy  $\beta$  - glukánov, čím je táto vrstva hrubšia, tým je mechanizmus bioadsorbcie účinnejší. Samotná bioadsorbčná kapacita kvasiniek samozrejme závisí aj od koncentrácie aflatoxínov v prostredí, teploty, pH a mnohých ďalších. Teplom usmrtené bunky kvasinky druhu *S. cerevisiae* A18, dokážu adsorbovať 73,03 % AFB<sub>1</sub>. Pričom je známe, že adsorbčná kapacita kvasiniek sa zvyšuje práve v prípade usmrtených buniek kvasiniek, pretože teplo zvyšuje permeabilitu cytoplazmatickej membrány týchto bioadsorbentov. Vplyv na adsorbčnú schopnosť kvasiniek má aj pH prostredia. Niektoré kmene kvasiniek majú vyššiu adsorbčnú schopnosť pri pH 3 alebo 8, naopak pri pH 6, sa ich adsorbčná kapacita výrazne znižuje (Tabuľka 1).

**Tabuľka 1:** Vplyv pH na schopnosť rôznych kmeňov kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* viazať AFB<sub>1</sub> (Zdroj: Dogi et al., (2011), upravené: Vojčíková).

Kmene kvasinky <i>S. cerevisiae</i>	pH		
	3	6	8
RC008	72.6 %	49.6 %	81.8 %
RC009	85.3 %	41.6 %	84.2 %
RC016	94.5 %	55.6 %	88.6 %

K ďalším faktorom ovplyvňujúcim adsorbčnú schopnosť kvasiniek patrí teplota a čas expozície. Kvasinka druhu *S. boulardii* (10<sup>9</sup> CFU/ml), dokáže účinne naviazať až 96,88 % AFM<sub>1</sub> v mlieku, pri počiatočnej koncentrácii mykotoxínu – 0,75 ng/ml, pri 37 °C, počas 90 minút. Zo znižujúcou sa teplotou, sa schopnosť kvasinky viazať AFM<sub>1</sub> v mlieku postupne znižuje a najvyššiu adsorbčnú schopnosť kvasinka dosahuje počas prvých minút pôsobenia. Zaujímavé výsledky vo väzbe AFB<sub>1</sub> z kontaminovaného krmiva, dosahuje aj extrakt bunkovej steny kvasiniek. Z dostupných štúdií je známe, že u potkanov, ktoré boli kŕmené krmivom kontaminovaným AFB<sub>1</sub>, došlo vďaka podávaniu extraktu bankovej steny kvasiniek k vyviazaniu 7,6 µg/l AFB<sub>1</sub>, z pôvodných 10 µg/l. So schopnosťou adsorbencie mykotoxínov z potravín a krmív sú spájané mnohé druhy probiotických kvasiniek, k tým najviac preskúmaným, patrí predovšetkým *Saccharomyces cerevisiae*, *S. boulardii*, *Kluyveromyces marxianus* alebo *K. lactis*. Účinok aplikácie probiotických kvasiniek schopných viazať aflatoxíny z prostredia sa značne zvyšuje, v prípade použitia kombinácie viacerých druhov kvasiniek, poprípade aj s využitím baktérii mliečneho kvasenia.

## Záver

V dnešnej dobe, je stále pomerne preferovaná aplikácia konzervačných látok a fungicídov, ktoré zvyšujú vývoj rezistentných kmeňov húb a majú negatívny vplyv na životné prostredie a ľudské zdravie. Väčšina fyzikálnych a chemických metód eliminácie aflatoxínov v potravinách má nízku účinnosť a negatívny dopad na kvalitu potravín. Preto je potrebné zvážiť aplikáciu biologických metód kontroly rastu aflatoxinogénnych vláknitých húb, produkcie ich mykotoxínov a znížiť tak bezpečnostné riziká a dopad na životné prostredie. Avšak, aj napriek rozsiahlemu zoznamu účinných kmeňov kvasiniek, ktoré sa môžu potenciálne aplikovať v poľnohospodárstve, len niekoľko z nich je registrovaných a komerčne dostupných na ochranu rastlín proti mykotoxínom. Nízky trend počtu vyvinutých produktov na báze kvasiniek je spôsobený najmä nedostatočne preskúmaným mechanizmom ich účinku, nákladmi na registráciu a absenciou komerčných partnerov. Prvou zaregistrovanou a komerčne využívanou kvasinkou, ktorá má potenciál produkovať antifungálne enzýmy – proteázy a VOCs, bola kvasinka *Candida oleophila*. Neskôr, boli zaregistrované aj kvasinky druhu *Aureobasidium pullulans*, *Cryptococcus albidus*, *Metschnikowia fructicola* a *Saccharomyces cerevisiae*. Aplikácia kvasiniek ako prostriedkov biologickej kontroly voči mikroskopickým vláknitým hubám a ich mykotoxínom má na rozdiel od iných mikroorganizmom niekoľko výhod. Kvasinky majú vo všeobecnosti jednoduché požiadavky na rast, môžu rásť rýchlejšie, dokonca aj na suchých povrchoch a nie je známe, že by produkovali toxické metabolity ako mikroskopické vláknité huby alebo baktérie. Aj napriek výhodám, ktoré biologická eliminácia aflatoxínov prostredníctvom kvasiniek ponúka, je tento spôsob biokontroly rastlín, potravín a krmív pomerne neprebádanou a neustále odsúvanou témou.

## Použitá literatúra

ABU MEJDAD, N.M.J.A. – AL SAADOON, A.H. – AL BADRAN, A.I. – MINATI, M.H. 2020. Optimum conditions of killer toxins produced by *Torulasporea delbrueckii* and *Wickerhamomyces anomalus* and

their action as antifungal agents. In *Bulletin of the National Research Centre*, vol. 44, n. 1, p. 1 – 9. <https://doi.org/10.1186/s42269-020-00407-8>

DOGI, C.A. – ARMANDO, R. – LUDUEÑA, R. – DE MORENO DE LEBLANC, A. – ROSA, C.A.R. – DALCERO, A. – CAVAGLIERI, L. 2011. *Saccharomyces cerevisiae* strains retain their viability and aflatoxin B<sub>1</sub> binding ability under gastrointestinal conditions and improve ruminal fermentation. In *Food Additives & Contaminants: Part A*, vol. 28, n. 12, p. 1705 – 1711. <https://doi.org/10.1080/19440049.2011.605771>

FREIMOSER, F.M. – RUEDA MEJIA, M.P. – TILOCCA, B. – MIGHELI, Q. 2019. Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. In *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 35, n. 10, p. 1 – 19. <https://doi.org/10.1007/s11274-019-2728-4>

GHOFRANI TABARI, D. – KERMANSHAHI, H. – GOLIAN, A. – MAJIDZADEH HERAVI, R. 2018. *In vitro* binding potentials of bentonite, yeast cell wall and lactic acid bacteria for aflatoxin B<sub>1</sub> and ochratoxin A. In *Iranian journal of toxicology*, vol. 12, n. 2, p. 7 – 13. <http://ijt.arakmu.ac.ir/article-1-642-en.html>

INTANOO, M. – KONGKEITKAJORN, M.B. – PATTARAJINDA, V. – BERNARD, J.K. – CALLAWAY, T.R. – SURIYASATHAPORN, W. – PHASUK, Y. 2018. Isolation and screening of aflatoxin detoxifying yeast and bacteria from ruminal fluids to reduce aflatoxin B<sub>1</sub> contamination in dairy cattle feed. In *Journal of applied microbiology*, vol. 125, n. 6, p. 1603 – 1613. <https://doi.org/10.1111/jam.14060>

JAIBANGYANG, S. – NASANIT, R. – LIMTONG, S. 2020. Biological control of aflatoxin – producing *Aspergillus flavus* by volatile organic compound producing antagonistic yeasts. In *BioControl*, vol. 65, p. 377 – 386. <https://doi.org/10.1007/s10526-020-09996-9>

JAIBANGYANG, S. – NASANIT, R. – LIMTONG, S. 2021. Effects of temperature and relative humidity on Aflatoxin B<sub>1</sub> reduction in corn grains and antagonistic activities against Aflatoxin producing *Aspergillus flavus* by a volatile organic compound producing yeast, *Kwoniella heveanensis* DMKU – CE82. In *BioControl*, vol. 66, p. 433 – 443. <https://doi.org/10.1007/s10526-021-10082-x>

KHADIVI, B.R. – RAZAVILAR, V. – ANVAR, S.A.A. – AKBARI, A.B. 2022. Removal Of Aflatoxin M<sub>1</sub> From The Reconstituted Milk By Adding Three Probiotics *Lactobacillus Rhamnosus*, *L. Plantarum*, And *Saccharomyces Boulardii* Using The Quantification Of Hplc Method, In *Journal of Food Microbiology*, vol.8, n. 4, p. 12 – 24. <https://www.sid.ir/paper/412247/en>

LUO, Y. – LIU, X. – YUAN, L. – LI, J. 2020. Complicated interactions between bioadsorbents and mycotoxins during mycotoxin adsorption: Current research and future prospects. In *Trends in Food Science & Technology*, vol. 96, p. 127 – 134. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.012>

MANNAZZU, I. – DOMIZIO, P. – CARBONI, G. – ZARA, S. – ZARA, G. – COMITINI, F. – BUDRONI, M. – CIANI, M. 2019. Yeast killer toxins: from ecological significance to application. In *Critical Reviews in Biotechnology*. vol. 39, n. 5, p. 603 – 617. <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1601679>

MANNAZZU, I. – DOMIZIO, P. – CARBONI, G. – ZARA, S. – ZARA, G. – COMITINI, F. – CIANI, M. 2019. Yeast killer toxins: From ecological significance to application. In *Critical reviews in biotechnology*, vol. 39, n. 5, p. 603 – 617. <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1601679>

MARTINEZ, M.P. – MAGNOLI, A.P. – PEREYRA, M.G. – CAVAGLIERI, L. 2019. Probiotic bacteria and yeasts adsorb aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and degrade it to less toxic AFM<sub>1</sub> metabolites. *Toxicon*, vol. 172, p. 1 – 7. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2019.10.001>

PICKOVA, D. – OSTRY, V. – TOMAN, J. – MALIR, F. 2021. Aflatoxins: History, significant milestones, recent data on their toxicity and ways to mitigation. In *Toxins*, vol. 13, n. 6, p. 399. <https://doi.org/10.3390/toxins13060399>

ROSSITER, S. 2019. Food and health information. (Online). 21.3.2019. Dostupné na: <https://www.ifis.org/blog/aflatoxins-overview-and-definitions> [cit. 2023.04.06].

RUSHING, B.R. – SELIM, M.I. 2019. Aflatoxin B<sub>1</sub>: A review on metabolism, toxicity, occurrence in food, occupational exposure, and detoxification methods. In *Food and chemical toxicology*, vol. 124, p. 81 – 100. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.11.047>

VANHOUTTE, I. – AUDENAERT, K. – DE GELDER, L. 2016. Biodegradation of mycotoxins: Tales from known and unexplored worlds. In *Frontiers in Microbiology*, vol. 7, n. 561 p. 561. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00561>

YANG, T. – WANG, C. – LI, C. – SUN, R. – YANG, M. 2023. Antagonistic effects of volatile organic compounds of *Saccharomyces cerevisiae* NJ – 1 on the growth and toxicity of *Aspergillus flavus*. In *Biological Control*, vol. 117, p. 10 – 15. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.105093>

YIANNIKOURIS, A. – APAJALAHTI, J. – KETTUNEN, H. – OJANPERÄ, S. – BELL, A.N. – KEEGAN, J.D. – MORAN, C.A. 2021. Efficient aflatoxin B<sub>1</sub> sequestration by yeast cell wall extract and hydrated sodium calcium aluminosilicate evaluated using a multimodal *in vitro* and *ex vivo* methodology. In *Toxins*, vol. 13, n. 1, p. 24. <https://doi.org/10.3390/toxins13010024>