

Ochratoxine A et toxines de *Fusarium* dans les céréales au Maroc

Abdellah Zinedine¹
Carlo Brera²
Mohamed Faid³
Mohamed Benlemlih⁴
Marina Miraglia²

¹ Laboratoire de toxicologie alimentaire,
Institut national d'hygiène,
27, avenue Ibn Batouta,
BP 769 Agdal,
Rabat
Maroc
<zinedineab@yahoo.fr>

² Reparto chimica dei cereali,
Laboratorio alimenti,
Istituto superiore di sanità,
Viale Regina Elena, 299,
00161 Rome
Italie
<carlo.brera@iss.it>
<miraglia@iss.it>

³ Département de microbiologie
et biotechnologie alimentaire,
Institut agronomique et vétérinaire Hassan II,
BP 6202
Rabat-Instituts
Maroc
<faidmohamed@yahoo.fr>

⁴ Laboratoire de microbiologie
de l'environnement,
Faculté des Sciences Dhar El Mahrèz,
BP 1796,
Fès
Maroc
<Benlemlihmo@yahoo.fr>

Résumé

Soixante échantillons de céréales (20 de maïs, 20 d'orge et 20 de blé) prélevés dans différents points de vente des villes de Rabat et Salé (Maroc) ont été analysés pour la détermination de l'ochratoxine A (OTA) et les toxines de *Fusarium*, notamment la fumonisine B₁ (FB₁) et la zéaralénone (ZEN). Le dosage de ces mycotoxines a été réalisé par chromatographie liquide haute performance (CLHP) après purification sur colonne d'immunoaffinité et détection par fluorimétrie. Les résultats ont montré que respectivement 40, 40 et 55 % des échantillons analysés de maïs, de blé et d'orge étaient contaminés par l'OTA. Les taux d'OTA les plus élevés dans les échantillons de maïs et de blé ont atteint respectivement 7,22 et 1,73 µg/kg. Parallèlement, les échantillons de céréales ont été analysés pour la co-occurrence naturelle des toxines de *Fusarium*. Les pourcentages de contamination des échantillons de maïs par la FB₁ et la ZEN étaient respectivement de l'ordre de 50 et 15 %. Tous les échantillons de maïs contaminés par l'OTA étaient également contaminés par la FB₁. Un échantillon de maïs a montré une contamination simultanée par l'OTA (7,22 µg/kg) et la FB₁ (5,96 mg/kg). Un autre échantillon de maïs était contaminé par les trois mycotoxines OTA (0,05 µg/kg), ZEN (13,5 µg/kg) et FB₁ (1,51 mg/kg). Il s'agit là du premier rapport sur la co-occurrence naturelle de l'OTA, la FB₁ et la ZEN dans les céréales commercialisées au Maroc.

Mots clés : céréale ; Maroc ; mycotoxine.

Thèmes : productions végétales ; qualité et sécurité des produits.

Abstract

Ochratoxin A and *Fusarium* toxins in cereals from Morocco

Sixty samples of cereals (20 corn, 20 barley and 20 wheat) purchased from popular markets of Rabat and Salé (Morocco) were analyzed for mycotoxins by HPLC with immunoaffinity clean-up and fluorimetric detection. Results showed that 40, 40 and 55% of corn, wheat, and barley samples respectively, were contaminated by Ochratoxin A (OTA). Corn samples were assayed for the co-occurrence of fumonisine B₁ (FB₁) and zearalenone (ZEN), the incidence of these mycotoxins in the corn samples being 50 and 15%, respectively. Results also showed that FB₁ was present in all the corn samples contaminated by OTA. One corn sample showed a simultaneous contamination with high levels of OTA and FB₁ at 7.22 µg/kg and 5.96 mg/kg, respectively. These values exceed the maximum limits set by EU regulations concerning OTA and FB₁ in cereals. Another corn sample was contaminated by the three mycotoxins, OTA (0.05 µg/kg), ZEN (13.5 µg/kg) and FB₁ (1.51 mg/kg). This study is the first report on the co-occurrence of OTA and *Fusarium* toxins in cereals from Morocco.

Key words: cereal; Morocco; mycotoxins.

Subjects: vegetal productions; product quality and security.

Les mycotoxines sont des contaminants naturels de l'alimentation humaine et animale ; elles sont produites par les moisissures des genres

Aspergillus, *Penicillium* et *Fusarium*. En raison de leur stabilité thermique, ces substances constituent un danger potentiel chez l'homme et les animaux. Actuel-

Tirés à part : A. Zinedine

lement, plus de 300 mycotoxines sont identifiées dans le monde, mais seules quelques-unes d'entre elles attirent l'attention des chercheurs. Ce sont les aflatoxines, l'ochratoxine A (OTA), la fumonisine B₁ (FB₁), la zéaralénone (ZEN) et les trichothécènes (déoxynivalénol, toxines T2 et HT2). Les propriétés chimiques et biologiques des mycotoxines sont diverses et leurs effets toxiques sont extrêmement variables. Ces effets concernent en général la carcinogénéité, la génotoxicité, la tératogénéité, la néphrotoxicité, l'hépatotoxicité et l'immunosensibilité (Galvano *et al.*, 2001 ; Creppy 2002). Les mycotoxines sont des métabolites capables de provoquer chez l'homme des syndromes spécifiques. En effet, d'après les monographies de l'Agence internationale de recherche sur le cancer (International Agency for Research on Cancer, IARC), l'aflatoxine B₁ (AFB₁) est la substance la plus cancérigène parmi les substances d'origine naturelle (IARC, 1993). L'OTA pourrait être impliquée dans les néphropathies endémiques des Balkans (Pfohl-Leszkowicz *et al.*, 2002). La ZEN est une mycotoxine produite par les espèces de *Fusarium* ; ses métabolites ont montré une compétitivité avec les récepteurs œstrogènes, elle est classée dans le groupe 3 par l'IARC (IARC, 1999), alors que la FB₁ pourrait être associée au cancer de l'œsophage chez l'homme (Norred et Voss, 1994). Non seulement les mycotoxines sont dangereuses pour la santé du consommateur, mais elles altèrent aussi la qualité marchande des produits contaminés entraînant ainsi de fortes pertes économiques.

Au Maroc, les céréales occupent une importance sociale, économique et nutritionnelle pour la population. En raison des périodes de sécheresse qu'a connues le Maroc ces deux dernières décennies, la production céréalière a enregistré une diminution de 25 à 85 %, entraînant un approvisionnement auprès de pays tiers pour satisfaire le marché national. Actuellement, on estime qu'environ 25 % des céréales produites à l'échelle internationale sont contaminées par des mycotoxines (Davegowda *et al.*, 1998).

Le Maroc est un pays méditerranéen caractérisé par un climat chaud et humide favorisant la croissance des moisissures dans les zones côtières qui abritent environ 70 % de la population totale. D'après Lafont (1970), les premières observations relevées dès 1945 à l'Institut national d'hygiène du Maroc, ont signalé une

intoxication de porcs par une alimentation moisie. Peu de travaux ont été entrepris pour rapporter la contamination des denrées alimentaires par les champignons toxigènes. Les études préliminaires ont montré que certains produits agricoles marocains étaient contaminés par l'AFB₁ et l'OTA (Tantaoui-Elaraki *et al.*, 1994 ; Filali *et al.*, 2001 ; Kichou et Wasler, 1993). Cependant, il n'y a pas suffisamment d'informations sur l'occurrence naturelle des toxines de *Fusarium* dans les céréales, notamment la FB₁ et la ZEN. Le présent travail a pour but de déterminer la présence de ces mycotoxines dans des céréales commercialisées au Maroc.

Matériel et méthode

Échantillonnage

Soixante échantillons de céréales commercialisées au Maroc, dont le blé (n = 20), l'orge (n = 20) et le maïs (n = 20), ont été prélevés sur les points de vente des villes de Rabat et Salé. Tous ces échantillons ont été transportés à l'unité d'analyse des mycotoxines du *Laboratorio Alimenti* de l'*Istituto Superiore di Sanità* de Rome (Italie) pour déterminer la présence de l'OTA, de la ZEN et de la FB₁.

Standards de mycotoxines

La préparation des standards de mycotoxines a été effectuée selon les procédures internationales officielles. Les mycotoxines sont des substances potentiellement toxiques pour l'homme, ce qui implique que leur manipulation doit être effectuée dans un laboratoire spécialisé, équipé du matériel de protection adéquat (gants, hottes d'aspiration, masques...).

Analyse des mycotoxines

Analyse de l'OTA

Les échantillons ont été analysés suivant une méthode validée et rapportés par Yazdanpanah *et al.* (2001) avec quelques modifications. Un échantillon de 25 g a été soumis à une extraction par 100 mL de mélange eau-acétonitrile (60:40, v/v) en utilisant un *blinder* pendant 3 minutes ; on a ensuite effectué une filtration sur papier-filtre Whatman n° 4. De ce filtrat, 4 mL ont été dilués par 44 mL d'une

solution de tampon phosphate (PBS, pH 7,3). puis 46 mL du filtrat dilué ont été appliqués à une colonne d'immunoaffinité (Ochraprep[®], R-Biopharm Rhône LTD, Glasgow, UK). La colonne a été lavée par 10 mL d'eau bidistillée et l'air a été chassé par aspiration. L'OTA a été éluée par application de 1,5 mL de méthanol (2 %) acidifié par l'acide acétique glacial. L'éluat a été dilué avec 1,5 mL d'eau bidistillée et mélangé au vortex. Un prélèvement de 200 µL de l'éluat dilué a été injecté à un chromatographe CLHP¹ équipé d'un injecteur automatique, d'une colonne C18 Kromasil KR100 (150 x 4,6 mm, 5 µm) et d'un détecteur de fluorescence. La phase mobile utilisée était le mélange acétonitrile-eau (2 %) acidifié par l'acide acétique glacial (50:50, v/v), le débit étant fixé à 1 mL/min. Le fluorimètre opérait à des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de 333 et 460 nm, respectivement.

Analyse de la ZEN

Les échantillons ont été analysés suivant une méthode validée au laboratoire. Vingt-cinq grammes d'échantillon broyés ont été extraits par 125 mL d'acétonitrile à 75 % dans l'eau bidistillée en utilisant un *blinder* à grande vitesse pendant 2 minutes. Après filtration sur papier Whatman n° 4, 20 mL du filtrat ont été dilués par 80 mL d'eau bidistillée. Puis 25 mL du filtrat dilué ont été appliqués à une colonne d'immunoaffinité (Easi-Extract[®] Zéaralénone, R-Biopharm Rhône LTD, Glasgow, UK). Après lavage de la colonne par 10 mL d'eau bidistillée et élimination de l'air par aspiration, la ZEN a été éluée par application de 1,5 mL de méthanol. L'éluat a été dilué avec 1,5 mL d'eau bidistillée et mélangé au vortex. Enfin, 100 µL de l'éluat dilué ont été injectés à un chromatographe CLHP (même équipement que dans l'OTA). La phase mobile utilisée était le mélange acétonitrile-eau-méthanol (46:46:8 v/v/v) à un débit de 1 mL/min, le fluorimètre opérant à des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de 274 et 440 nm, respectivement.

Analyse de la FB₁

L'extraction de la FB₁ a été réalisée selon la méthode AOAC décrite par Visconti *et al.* (2001). Vingt-cinq grammes d'échantillon broyés ont été extraits par un mélange méthanol-acétonitrile-eau

¹ CLHP : chromatographie liquide haute performance.

(25:25:50, v/v/v) en utilisant un *blinder* pendant 4 minutes. Après filtration sur papier Whatman n° 4, 10 mL du filtrat ont été dilués avec 40 mL du PBS. Une colonne d'immunoaffinité (Fumoniprep, R-Biopharm Rhône LTD, Glasgow, UK) a été conditionnée par 5 mL du PBS. Dix millilitres du filtrat dilué ont été appliqués à la colonne. La colonne a été lavée par 10 mL d'eau bidistillée et l'air chassé par aspiration. La ZEN a été éluée par application de 1,5 mL de méthanol. L'éluat dilué avec 1,5 mL d'eau bidistillée a été ensuite homogénéisé au vortex. La dérivation précolonne des extraits a été effectuée avec le mélange Ortho-Phtaldialdéhyde (OPA)/2-mercaptoéthanol (MCE). Le réactif OPA/MCE était préparé chaque semaine en dissolvant 120 mg d'OPA dans 3 mL de méthanol auquel 15 mL de tétraborate de sodium (0,1M) et 150 mL de MCE étaient ajoutés. Le réactif étant photosensible, il devait être conservé à l'abri de la lumière. Puis 450 µL du réactif OPA/MCE étaient mélangés avec 50 µL de l'extrait à analyser et homogénéisés au vortex. Après 3 minutes, 100 µL étaient injectés à un chromatographe CLHP comportant un

injecteur automatique, une colonne C18 (150 x 4 mm, 5 µm) et un détecteur de fluorescence. La phase mobile utilisée était le mélange méthanol-dihydrogénéphosphate de sodium à 0,1M (77:23, v/v) ajusté à un pH 3,35 avec 85 % d'acide phosphorique. Le débit était fixé à 1 mL/min, alors que le fluorimètre opérait à des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de 335 et 440 nm, respectivement.

Contrôle qualité

Pour chaque série d'analyses, des échantillons de céréales ont été fortifiés par des ajouts connus de mycotoxines. Après homogénéisation des échantillons, le solvant était mis à évaporer pendant la nuit. Les échantillons fortifiés ont été analysés avec chaque série d'analyse pour déterminer le pourcentage de recouvrement pour chaque mycotoxine et chaque matrice à analyser. Tous les résultats analytiques ont été corrigés en fonction des pourcentages de recouvrement (Rc) obtenus.

Résultats et discussion

Performance des méthodes analytiques

Les analyses statistiques des performances des méthodes analytiques utilisées pour la détermination des mycotoxines dans les céréales sont représentées dans le *tableau 1*. Les pourcentages de recouvrement (Rc) pour l'OTA, la ZEN et la FB1 dans les céréales étaient bons et se situaient dans les limites acceptables à l'échelle internationale (70-120 %). Le coefficient de variation pour la reproductibilité des échantillons fortifiés par les mycotoxines variait entre 1,52 et 24,28 %.

Présence de mycotoxines dans les céréales

Les résultats de la contamination des céréales par les mycotoxines sont représentés dans les *tableaux 2* et *3*. Ainsi, 40, 40 et 55 % respectivement des échantillons de maïs, de blé et d'orge analysés sont contaminés par l'OTA. Dans les échantillons d'orge, les niveaux d'OTA

Tableau 1. Analyse statistique de quelques performances des méthodes analytiques de l'OTA, la ZEN et la FB₁ dans les céréales.

Table 1. Statistical analysis of some performances of analytical methods of OTA, ZEN and FB₁ in cereals.

Céréales	Mycotoxine	Taux de fortification	Rc (%) ^a	SD ^b	CV (%) ^c
Orge	OTA	0,11 µg/kg	96,56	0,005	4,50
		0,22 µg/kg	101,7	0,032	15,78
		0,12 µg/kg	94,16	0,021	17,8
Maïs	OTA	0,25 µg/kg	87,5	0,01	3,41
		0,7 µg/kg	98,14	0,125	16,6
		0,27 µg/kg	83,7	0,025	11,3
		0,1 µg/kg	82,3	0,011	9,10
Blé	OTA	0,16 µg/kg	85,5	0,013	9,28
		1,7 µg/kg	92,3	0,04	2,66
		0,8 µg/kg	94,4	0,012	1,52
Maïs	ZEN	25 µg/kg	116,12	6,04	24,28
		50 µg/kg	93,66	1,45	2,9
		10 µg/kg	92,3	0,88	9,73
Maïs	FB ₁	0,78 mg/kg	80,35	0,035	4,33
		0,93 mg/kg	82,5	0,075	8,3

OTA : ochratoxine A ; ZEN : zéaralénone ; FB₁ : fumonisine B₁.

^a Pourcentage de recouvrement.

^b écart type.

^c Coefficient de variation pour la reproductibilité.

Tableau 2. Co-occurrence naturelle de l'OTA, de la FB1 et la ZEN dans les échantillons du maïs.

Table 2. Natural co-occurrence of OTA, FB1 and ZEN in corn samples.

Échantillons de maïs (n = 20)	OTA (µg/kg)	FB ₁ (mg/kg)	ZEN (µg/kg)
1	-	1,15	16,50
2	-	1,00	11,8
3	7,22	5,96	-
4	0,1	2,61	-
5	0,28	0,28	-
6	0,54	0,01	-
7	0,05	1,51	13,5
8	0,27	0,60	-
9	0,05	0,70	-
10	0,11	5,50	-
Moyenne (µg/kg)	0,43	0,96	2,09
Échantillons positifs (%)	40	50	15

OTA : ochratoxine A ; ZEN : zéaralénone ; FB₁ : fumonisine B₁.

varient entre 0,04 et 0,8 µg/kg, avec une concentration moyenne de l'ordre de 0,17 µg/kg. Dans les échantillons de blé, la concentration d'OTA varie entre 0,04 et 1,73 µg/kg, avec une concentration moyenne de l'ordre de 0,09 µg/kg (tableau 3). Dans les échantillons de blé et d'orge, la ZEN et la FB₁ étaient au-dessous de la limite de détection de ces toxines.

En ce qui concerne le maïs, la concentration moyenne en OTA est d'environ 0,43 µg/kg, alors que la valeur la plus élevée a été enregistrée dans l'échantillon n° 3 (7,22 µg/kg). Cette dernière valeur dépasse la limite maximale fixée par la réglementation européenne concernant l'OTA dans les céréales et qui est établie à 5 µg/kg (Creppy, 2002).

Concernant la co-occurrence naturelle des toxines de *Fusarium* avec l'OTA parmi les céréales analysées, 15 et 50 % des échantillons de maïs contaminés par l'OTA se trouvent aussi contaminés par la ZEN et la FB₁. Les concentrations en ZEN varient entre et 11,8 et 16,5 µg/kg alors que les concentrations en FB₁ se situent entre 0,01 et 5,96 mg/kg. Les valeurs moyennes des concentrations de la ZEN et la FB₁ sont respectivement de 2,09 µg/kg et 0,96 mg/kg. Tous les échantillons de maïs contaminés par l'OTA étaient contaminés par une autre mycotoxine (ZEN ou FB₁). Un seul échantillon (n° 7) a été trouvé contaminé simultanément par les trois mycotoxines avec des concentrations respectives de 13,5 µg/kg de ZEN, 0,05 µg/kg d'OTA et 1,51 mg/kg de FB₁.

Tableau 3. L'OTA dans les échantillons de blé et de l'orge.

Table 3. OTA in wheat and barley samples.

Céréales	OTA (µg/kg)
Orge (n = 20)	
1	0,10
2	0,18
3	0,13
4	0,20
5	0,05
6	0,12
7	0,05
8	0,12
9	0,80
10	0,05
11	0,04
Moyenne (µg/kg)	0,09
Échantillons positifs (%)	55
Blé (n = 20)	
1	0,86
2	0,16
3	0,10
4	1,73
5	0,04
6	0,36
7	0,05
8	0,06
Moyenne (µg/kg)	0,17
Échantillons positifs (%)	40

La concentration la plus élevée en FB₁ a été enregistrée au niveau de l'échantillon de maïs n° 3 (5,96 mg/kg). Cette valeur dépasse largement la valeur susceptible d'être retenue par la réglementation européenne pour le maïs et les produits à base de maïs, et qui serait de l'ordre de 2 mg/kg. Une concentration élevée, de l'ordre de 5,5 mg/kg en FB₁, a été retrouvée dans l'échantillon n° 10 ; cependant le taux d'OTA dans cet échantillon demeure faible (0,11 µg/kg). Ces résultats suggèrent que la co-occurrence de l'OTA et de la FB₁ dans les échantillons de maïs analysés est probablement due à deux processus de contaminations séparés par les moisissures toxigènes du champ (*Fusarium*) et de stockage (*Aspergillus*). Le maïs est considéré comme une céréale à risque élevé de contamination par les moisissures toxigènes, à la différence d'autres céréales susceptibles d'être plus résistantes à la contamination par les moisissures, comme l'orge et le blé (Jelinnek *et al.*, 1989). Les résultats concordent avec les travaux effectués sur l'OTA, notamment ceux de Maaroufi *et al.* (1995), Miraglia *et al.* (1995) et Beretta *et al.* (2002) qui ont trouvé que les céréales et les produits dérivés originaires des pays de la région méditerranéenne pouvaient être contaminés par l'OTA en raison du climat caractérisé par une chaleur humide et des températures élevées.

Conclusion

Ce travail a montré la possibilité de contamination des céréales commercialisées au Maroc par les mycotoxines et la co-occurrence naturelle de l'OTA avec des toxines élaborées par *Fusarium* (la

ZEN et la FB₁), notamment dans le maïs. Il serait intéressant de conduire d'autres études en élargissant la gamme des produits afin d'établir un bilan des connaissances actuelles et de comprendre le processus de mycotoxinogénèse. Il est aussi nécessaire d'étudier l'impact de ces toxines sur la population marocaine et de protéger le consommateur local des problèmes chroniques éventuels posés par ces toxines, en raison de l'élaboration d'un projet de réglementation de ces toxines dans les produits agricoles au Maroc et par l'instauration d'un programme de contrôle et de surveillance à l'échelle nationale. ■

Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le cadre du Programme de coopération technique et scientifique entre le Maroc et l'Italie (2003). Les auteurs remercient le ministère des Affaires étrangères italien pour sa contribution à la réalisation de cette étude.

Références

- Beretta B, De Domenico R, Gaiaschi A, Ballabio C, Galli CL, Gigliotti C. Ochratoxin A in cereal-based baby foods: occurrence and safety evaluation. *Food Add Contam* 2002 ; 19 : 70-5.
- Creppy EE. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol Lett* 2002 ; 127 : 19-28.
- Davegowda G, Raju MVLN, Swang HVLN. Mycotoxins : novel solutions for their counteraction. *Feedstuffs* 1998 ; 70 : 12-5.
- Filali A, Ouammi L, Betbeder AM, Baudrimont I, Soulaymani R, Benayada A. Ochratoxin A in beverages from Morocco : a preliminary survey. *Food Add Contam* 2001 ; 18 : 565-8.
- Galvano F, Piva A, Ritlen A, Galvano G. Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins : a review. *J Food Prot* 2001 ; 64 : 120-31.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). Evaluation of carcinogenic risks of chemical to humans. In: *Some naturally-occurring substances : Food Items and Constituents. Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins*. IARC monographs, Lyon : IARC, 1993.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). *Overall evaluations of carcinogenicity to humans*. IARC monographs. Lyon : IARC, 1999.
- Jelinnek CF, Pohland AE, Wood GE. World-wide occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an update. *J AOAC Int* 1989 ; 72 : 223-30.
- Kichou F, Wasler MM. The natural occurrence of aflatoxin B1 in Moroccan poultry feeds. *Vet Hum Toxicol* 1993 ; 35 : 105-8.
- Lafont P. Mycotoxines et alimentation. *Cah Nut Diet* 1970 ; 5 : 41-5.
- Maaroufi K, Achour A, Betbeder AM, Hammami M, Ellouz F, Creppy EE. Foodstuffs and human blood contamination by the mycotoxin ochratoxin A : A correlation with chronic interstitial nephropathy in Tunisia. *Arch Toxicol* 1995 ; 69 : 552-8.
- Miraglia M, De Dominicis A, Brera C, Cornelli S, Cava E, Menghetti E. Ochratoxin A levels in Human milk and related food samples : an exposure assessment. *Nat Toxins* 1995 ; 3 : 436-44.
- Norred WP, Voss KA. Toxicity and role of fomonisins in animal diseases and human esophageal cancer. *J Food Prot* 1994 ; 57 : 522-7.
- Pfohl-Leszkowicz A, Petkova-Bocharova T, Chernozemsky IN, Castegnaro M. Balkan endemic nephropathy and associated urinary tract tumors : a review on etiological causes and the potential role of mycotoxins. *Food Addit Contam* 2002 ; 19 : 282-302.
- Tantaoui-Elaraki A, Benabdellah L, Majdi M, Elalaoui MR, Dahmani A. Recherche des mycotoxines dans les denrées alimentaires distribués au Maroc. *Actes Inst Agro Vét* 1994 ; 14 : 11-6.
- Visconti A, Solfrizzo M, De Girolamo A. Determination of fumonisins B1 and B2 in corn and cornflakes by liquid chromatography with immunoaffinity column cleanup: Collaborative study. *J AOAC Int* 2001 ; 84 : 1828-37.
- Yazdanpanah H, Miraglia M, Calfapietra FR, Brera C. Natural occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in corn and barley from Mazandaran and Golestan in north provinces of Iran. *Food Addit Contam* 2001 ; 17 : 21-30.