

Alimentární mykotoxikózy

Alimentary Mycotoxicoses

Viera Nováková

Bakalářská práce
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Viera NOVÁKOVÁ**
Osobní číslo: **T090609**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie a řízení v gastronomii**

Téma práce: **Alimentární mykotoxikózy**

Zásady pro vypracování:

1. Charakterizace mykotoxinů a jejich klasifikace
2. Výskyt a působení mykotoxinů na člověka
3. Popište metody stanovení mykotoxinů
4. Zamezení výskytu mykotoxinů

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. Malíř, F., Ostrý, V. a kol. Vlákenné mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka. Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, Brno 2003. ISBN 80-7013-395-3.
2. Hrdina, R., Hrdina, V. Přírodní toxiny a jedy. Praha: Galén, 2004. ISBN 8072622560.
3. Šilhánková, L. Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology. Praha: Academia, 2009. ISBN 978-80-200-1703-1.
4. Herink, J. Toxické poškození ledvin houbami. Praha: Maxdorf, 2007. ISBN 80-7345-122-0.
5. Hashem, M., Alamri, S. Contamination of common spices in Saudi Arabia markets with potential mycotoxin producing fungi. Saudi Journal of Biological Science, 2010, 17,167-175. ISSN 1319-562.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Ladislava Mišurcová, Ph.D.

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

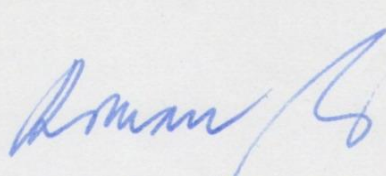
Datum zadání bakalářské práce:

6. ledna 2012

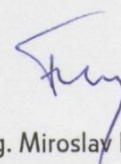
Termín odevzdání bakalářské práce:

21. května 2012

Ve Zlíně dne 15. února 2012



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 14.5.2012

.....


¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Bakalářská práce je zaměřena na obecnou problematiku a klasifikaci mikroskopických toxinogenních hub, produkujících mykotoxiny, které mohou způsobovat těžké otravy, případně vyústit v závažná onemocnění. Vybrané druhy mykotoxinů jsou charakterizovány podle toxicity a chemického složení, dále je popsán typ onemocnění, které mohou vyvolat u lidí a zvířat. Z důvodu eliminace mykotoxikóz jsou důležité také metody pro jejich diagnostiku, jejichž principy jsou v práci charakterizovány.

Klíčová slova : aflatoxin, ochratoxin A, patulin, zearalenon, fumonisiny, námelové alkaloidy, aspergilóza, ergotismus, akutní kardiální beri - beri

ABSTRACT

The dissertation focuses on microscopic toxigenic fungi that produce mycotoxins that can lead to acute poisoning or serious illness. Selected varieties of mycotoxins are classified according to their toxicity and chemical composition. This is accompanied by a description of different kinds of diseases these mycotoxins can cause both in humans and animals. Reliable diagnostics is important to fight mycotoxicosis effectively. The core principles of such diagnostics is characterized in the work.

Keywords: aflatoxin, ochratoxin A, patulin, zearalenone, fumonisin, ergot alkaloids, aspergillosis, ergotism, acute cardiac beriberi

Poděkování

Ráda bych poděkovala touto cestou vedoucí bakalářské práce

Ing. Ladislavě Mišurcové, Ph. D. za odbornou pomoc a trpělivost při zpracování této práce. Také bych chtěla poděkovat své rodině za podporu a shovívavost po celou dobu svého studia.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

1	ÚVOD	10
2	MYKOTOXINY	12
2.1	PRVNÍ POZNATKY O MYKOTOXINECH	12
2.2	ROZDĚLENÍ MYKOTOXINŮ	13
2.2.1	Rozdělení mykotoxinů podle toxicity	13
2.2.2	Dělení mykotoxinů podle toxikologického účinku	14
2.2.3	Rozdělení mykotoxinů podle chemického složení	15
2.2.4	Rozdělení mykotoxinů podle způsobu biosyntézy:	16
3	VÝSKYT MYKOTOXINŮ V POTRAVINÁCH	18
4	MYKOTOXINY A JEJICH PRODUCENTI	19
4.1	AFLATOXINY	19
4.1.1	<i>Aspergillus flavus</i>	19
4.1.2	<i>Aspergillus parasiticus</i>	20
4.1.3	Rozdělení aflatoxinů	22
4.1.4	Výskyt aflatoxinů v potravinách	23
4.2	PATULIN	25
4.2.1	<i>Penicillium expansum</i>	26
4.3	OCHRATOXIN A	27
4.4	ZEARALENON	28
4.4.1	<i>Fusarium culmorum</i>	28
4.5	FUMONISINY	30
4.5.1	Výskyt fumonisinů v potravinách	30
4.6	KYSELINA CYKLOPIAZONOVÁ	31
4.7	NÁMELOVÉ ALKALOIDY	32
4.7.1	<i>Claviceps purpurea</i>	33
5	MYKOTOXIKÓZY	34
5.1	ASPERGILÓZA	34
5.2	ERGOTIZMUS	35
5.3	ALIMENTÁRNÍ TOXICKÁ ALEUKIE (ATA)	35
5.4	AKUTNÍ KARDIÁLNÍ BERI - BERI	36
6	OCHRANA PŘED MYKOTOXINY	37
7	MYKOTOXIKÓZY U ZVÍŘAT	38
8	METODY STANOVENÍ MYKOTOXINŮ	39
8.1	MYKOLOGICKÉ METODY	39
8.1.1	Primokultivace	39
8.1.2	Izolace	39
8.1.3	Determinace (určování) kmenů	39

8.2	IMUNOCHEMICKÉ METODY	40
8.2.1	Stanovení mykotoxinů pomocí imunoafinitních kolonek	40
8.2.2	Radioimunoanalýza (RIA)	40
8.2.3	ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay).....	41
8.3	CHROMATOGRAFICKÉ METODY	41
8.3.1	Chromatografická metoda HPLC (high-performance liquid chromatography).	41
8.3.2	Chromatografie na tenké vrstvě	42
9	PREVENCE PROTI KONTAMINACI MYKOTOXINY	43
10	BEZPEČNOST POTRAVIN	45
	ZÁVĚR	47
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	48
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	53
	SEZNAM OBRÁZKŮ	54
	SEZNAM TABULEK.....	55

1 ÚVOD

Potraviny jsou zdrojem energie a mnoha důležitých látek, které se podílí na metabolismu člověka. Správná skladba, ale také kvalita potravin je důležitá pro zdraví člověka. Potravin však mohou být i zdrojem látek škodlivých, jehož důvodem může být nekvalitní surovina, případně mohou vznikat při nesprávném technologickém procesu, či špatných skladovacích podmínkách. Globalizace trhu s potravinami umožňuje zvýšit dostupnost potravin během celého roku, ať se jedná o ovoce, zeleninu, nebo hotové výrobky. Negativním důsledkem však může být zvýšené riziko znehodnocení převážených potravin v důsledku dlouhých transportů. Nesprávnou manipulací a nedodržením skladovacích podmínek může dojít k napadení potravin plísněmi.

Plísně jsou eukaryotní mikroorganismy, které se řadí mezi houby. Některé plísně produkují pro lidský organizmus nebezpečné mykotoxiny. Výskyt plísní, které produkují mykotoxiny, je podmíněný vhodnými klimatickými podmínkami pro jejich růst, jako jsou vlhko a teplo. Suroviny, které jsou napadeny plísněmi, se při nesprávném technologickém postupu mohou stát zdrojem mykotoxinů, které se následně dostávají do potravinového řetězce.

Toxiny, produkované plísněmi, jsou mnohem rozmanitější a termorezistentnější než bakteriální toxiny. K nejnebezpečnějším mykotoxinům patří aflatoxiny produkované zejména druhy *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*. Mezi velmi rizikové suroviny pak patří kukuřice, obilí a arašídů. Jejich nebezpečí spočívá v tom, že i nepatrné množství mykotoxinů v lidském těle může mít fatální následky na zdravotní stav jedince.

Pro jednotlivé suroviny jsou v rámci ES stanoveny maximální limity mykotoxinů, které mohou obsahovat. Dochází ke zpřísnování těchto norem. Stále jsou objevovány nové poznatky o možných souvislostech mezi toxiny produkovanými plísněmi a závažnými onemocněními. Nové způsoby prevence, zaměřené na eliminaci nákaz mikroskopickými houbami a rozvoj mykotoxikóz, dále opatření při pěstování a zpracování plodin, jsou neustále ve fázi vývoje a výzkumu.

Problematika mykotoxinů je velmi závažná z důvodu poměrně snadné kontaminace potravin a krmiv plísněmi a následným průnikem mykotoxinů do potravinového řetězce. Velmi

důležitou roli proto mají i diagnostické metody pro stanovení mykotoxinů v porovinářských surovinách a potravinách.

2 MYKOTOXINY

První poznatky o mykotoxinech

Název mykotoxiny se skládá z řeckého slova *myco*, což znamená houba a latinského slova *toxicum*, což znamená jed. Mykotoxiny jsou toxickými metabolity některých plísní, jenž patří mezi jedny z nejzávažnějších kontaminantů přírodního původu. Jedná se o vysoce nebezpečné chemické látky, známé právě svými toxickými účinky. K nejstarším popsáním otravám, způsobeným mykotoxiny, patří např. ergotizmus či onemocnění ze žluté rýže. Ergotizmus, vzniklý kontaminací žita námelem, si např. r. 944 ve Francii, v oblastech Akvitánie a Limoges, vyžádal na 40 tisíc lidských životů. Nástup skutečného vědeckého bádání na poli mykotoxinů se datuje rokem 1960, kdy byly ve Velké Británii objeveny „aflatoxiny“ poté, co způsobily úhyn asi 100 tisíc kusů vánočních krocanů krmných moučkou z brazilské podzemnice olejné [1].

Mykotoxiny představují neustále závažné zdravotní riziko pro člověka i zvířata. Vykazují účinky genotoxické, mutagenní, karcinogenní, estrogenové, cytotoxické, neurotoxické a hepatotoxické. Akutní otravy způsobené mykotoxiny jsou v současnosti pozorovatelné pouze ve výjimečných případech. Na celém světě dochází v průběhu celého potravinového řetězce ke kontaminacím surovin i potravin plísněmi a mykotoxiny a děje se tak přirozeně. Požadavky na zdravotní nezávadnost potravin se zvyšují a proto se klade velký důraz na zjišťování přítomnosti škodlivých látek, zejména mykotoxinů v potravinářských surovinách i produktech [1].

O významu mykotoxinů svědčí i hlášení v systému rychlého varování pro potraviny a krmiva (RASFF: Rapid Alert System for Food and Feed). Systém RASFF slouží pro ohlašování rizikových potravin a krmiv za účelem zamezení jejich uvádění do oběhu, nebo za účelem jejich stažení ze společného evropského trhu [1].

2.2 Rozdělení mykotoxinů

Mykotoxiny jsou velmi stabilní sloučeniny, které se v podmínkách průmyslových a kulinařských procesů nerozkládají. Z tohoto důvodu je velice obtížné zajistit, aby se mykotoxiny nevyskytovaly v konečném produktu, pokud byla surovina již jednou kontaminována.

Kontrola přítomnosti mykotoxinů vzhledem k jejich vysoké toxicitě nabývá na významu spolu s faktem, že Evropská unie stanovuje Nařízením Komise č. 1881/2006/ES maximální přípustné koncentrace pro některé mykotoxiny v určitých plodinách [2].

Mezi mykotoxiny, na které se zaměřuje vývoj bioanalytických metod, patří dosud nejvíce studované aflatoxiny, ochratoxin A a fusariové mykotoxiny, reprezentované hlavně deoxynivalenolem [3].

Přesné rozdělení mykotoxinů do specifických skupin není jednoduché. Je možné je rozdělit :

- podle toxicity,
- podle chemického složení,
- podle způsobu biosyntézy [3].

2.2.1 Rozdělení mykotoxinů podle toxicity

Toxicita chemických sloučenin se určuje na základě letální dávky LD50 (Lethal Dosis 50), která určuje množství testované látky, které způsobí úhyn 50 % testovaných organismů. Na toxické látky jsou více vnímavé organismy ve vývinu a organismy s oslabeným imunitním systémem. Toxicita jednotlivých chemických sloučenin pro člověka je stanovena podle toxicity těchto látek stanovené na základě působení těchto látek na živočichy a další biologické objekty [3].

- **Silně toxické**

Mezi silně toxické mykotoxiny jsou řateny aflatoxiny, patulin, luteoskyrin, sporidesminy, ochratoxin A, cyklochlotin (islandotoxin), zearalenon (F-2 toxin), T-2 toxin, diacetoxyscirpenol, citreoviridin, rubratoxiny a penitrem [3].

- **Středně toxické**

Střední toxicitu vykazují sloučeniny jako je citrinin, kyselina penicillová, sterigmatocystin a kyselina cyklopiazonová [3].

- **Slabě toxické**

Za slabě toxické jsou považovány např. griseofulvin, kyselina koji, trihothecin, kyselina mykofenolová a chaetomin [3].

2.2.2 Dělení mykotoxinů podle toxikologického účinku

Z hlediska toxikologické praxe má značný význam dělení mykotoxinů podle jejich toxicity, popř. vyčlenění mykotoxinů genotoxických a karcinogenních. Některé mykotoxiny jsou však z hlediska jejich toxikologického účinku řazeny do více skupin [3].

- **Dermatotoxiny** způsobují dermatitidy, vyrážky, puchýřky, popř. záněty spojivek. Do této skupiny patří trichotheceny, psolareny, verrucariny, sporidesminy, sterigmatocystin [3].

Trichotheceny jsou produkovány plísněmi rodů *Dendrochium*, *Fusarium*, *Myrothecium*, *Trichothecium*, *Stachybotris*, *Cephalosporium*, *Verticimonosporium*. Trichotheceny jsou velmi odolné vůči inaktivaci při procesu zpracovávání surovin [4].

- **Estrogeny** jsou látky jejichž účinkem dochází k poruchám hladiny estrogenu s následnou intenzivní látkovou výměnou v děloze, která způsobuje odumírání ještě nevyvinutých plodů v děloze. Do této skupiny mykotoxinů je řazen zearalenon [3].

Zearalenony byly objeveny v kukuřici a dalších obilninách. Při kontaminaci krmiv způsobují syndromy hyperestrogenizmu u prasat, skotu a drůbeže. Zearalenon ve skladovaném obilí je velmi stabilní a zůstává nezměněn i po tepelném zpracování mouky či fermentaci [4].

- **Genotoxiny** poškozují genetickou strukturu informačních systémů v biologickém materiálu, čímž dochází ke vzniku karcinogenů. Patří sem aflatoxiny, sterigmatocystin,

ochratoxin A, citrinin, zearalenon, patulin, trichotheceny, fumonisiny, fusarin C a griseofulvin [3].

- **Hematotoxiny** způsobují poruchy krevního oběhu. Do této skupiny jsou řazeny aflatoxiny, ochratoxin A, zearalenon, trichotheceny [3].

- **Hepatotoxiny** mají negativní vliv na funkci jater. Do této skupiny jsou řazeny aflatoxiny, luteoskyrin, sterigmatocystin a phomopsin A [3].

Sterigmatocystin produkují plísňe *Aspergillus flavus*, *A. versicolor*, *A. nidulans*. Vyskytují se především v mase jako rezidua kontaminovaných krmiv, v obilí a na vnější vrstvě tvrdých sýrů [4].

- **Imunotoxiny** způsobují především oslabení imunitního systému. K imunotoxinům jsou řazeny aflatoxiny, ochratoxin A, trichotheceny, patulin, gliotoxin a sporidesmin [3].

- **Nefrotoxiny** mohou způsobit poškození ledvin. Do této skupiny patří citrinin, ochratoxin A [3].

Citrinin produkují rody *Aspergillus* a *Penicillium*. Jde o středně nefrotoxickou látku, která byla zjištěna převážně v obilninách. Výskyt citrininu ale není tak častý [4].

- **Neurotoxiny** mohou poškozovat nervový systém. Patří sem penitren A, fumitremorgeny, verruculogeny a fumonisiny [3].

- **Toxiny zažívacího traktu** způsobují gastrointestinální problémy u kterých jsou doprovodnými symptomy bolesti břicha, zvracení a průjemy. Mezi toxiny zažívacího traktu patří trichotheceny [3].

2.2.3 Rozdělení mykotoxinů podle chemického složení

Podle chemického složení je možné mykotoxiny rozdělit do následujících skupin:

- **Furanofurany** – aflatoxiny, sterigmatocystin, versicolorin.

- **Substituované pyreny a hydroxypyreny** – kyselina koji, sekalonové kyseliny.
- **Epoxytrichotheceny** – T-2 toxin, diacetoxyscirpenol (DAS), vomitoxin a jiné.
- **Polycyklické substituované indolové deriváty** – kyselina cyklopiazonová, paspaliny.
- **Cyklické dipeptidy** – gliotoxin, sporidesminy, roquefortin a jiné.
- **Mykotoxiny jiné struktury** – zearalenon, curvularin, citrinin a jiné [3].

2.2.4 Rozdělení mykotoxinů podle způsobu biosyntézy:

- **Biosyntéza z kyseliny octové** – moniliformin
- **Biosyntéza z polyketidů** – patulin, ochratoxin, emodin, kyselina sekalonová, aflatoxiny
- **Biosyntéza z izoprenoidů** – trichotheceny, roquefortiny
- **Biosyntéza z aminokyselin** – kyselina cyklopiazonová, cyklické dipeptidy [3].

V tabulce č.1 jsou uvedeny mykotoxiny a druhy plísní, které je produkují.

Tabulka 1 Plísně, produkující mykotoxin

Mykotoxiny	Druhy plísní
Aflatoxiny	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i>
Kyselina cyklopiazonová	<i>Aspergillus flavus</i>
Ochratoxin A	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Penicillium viridicatum</i> , <i>Penicillium cyclopium</i>
Citrinin	<i>Penicillium citrinum</i> , <i>Penicillium expansum</i>
Patulin	<i>Penicillium expansum</i>
Citreoviridin	<i>Penicillium citreo-viride</i>
Deoxynivalenol	<i>Fusarium culmorum</i> , <i>Fusarium graminearum</i>
Diacetoxyscirpenol (DAS)	<i>Fusarium sporotrichioides</i> , <i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fusarium poae</i> , <i>Fusarium culmorum</i> , <i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fusarium sporotrichoides</i>
Zearalenon	<i>Fusarium culmorum</i> , <i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fusarium sporotrichoides</i>
Fumonisin, moniliformin, kyselina fusarová	<i>Fusarium moniliforme</i>
Kyselina tenuazonová, alternariol, alternariol methyl ester, altenuen	<i>Alternaria alternata</i>
Ergopeptinové alkaloidy	<i>Neotyphodium coenophialum</i>
Lolitremové alkaloidy	<i>Neotyphodium lolii</i>
Námelové alkaloidy	<i>Claviceps purpurea</i>
Phomopsiny	<i>Phomopsis leptostromiformis</i>
Sporidesmin A	<i>Pithomyces chartarum</i>

3 VÝSKYT MYKOTOXINŮ V POTRAVINÁCH

Některé potravinářské suroviny, případě potraviny mohou být z hlediska intoxikací mykotoxiny rizikovější.

Mezi rizikové suroviny patří:

- **Obiloviny** – kukuřice, čirok, pšenice, rýže
- **Olejniny** – sója, arašídý, slunečnice, semena bavlníku
- **Koření** – chilli papriky, černý pepř, koriandr, kurkuma, zázvor
- **Ořechy** – pistácie, mandle, vlašské ořechy, kokosové a para-ořechy [5]

Za rizikové potraviny jsou považovány:

- **chléb, pečivo** – aflatoxiny, ochratoxin A
- **masné výrobky (trvanlivé salámy)** – aflatoxiny, ochratoxin A
- **tvrdé a tavené sýry** – aflatoxiny, ochratoxin A, sterigmatocystin
- **plísňové sýry** – kyselina cyklopiazonová
- **ovoce, zelenina, také v konzervovaném stavu, kompoty, džemy, marmelády** – aflatoxiny, ochratoxin A, patulin
- **koření** – aflatoxiny
- **sušené plody, např. fíky** – aflatoxiny, **rozinky** – ochratoxin A
- **rýže** – aflatoxiny, citrinin, luteoskyrin [5]

4 MYKOTOXINY A JEJICH PRODUCENTI

4.1 Aflatoxiny

Tyto mykotoxiny jsou odvozené od difuranokumarinového skeletu. Aflatoxiny, jakožto velice nebezpečná rezidua, jsou produkovány dvěma druhy plísní: *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*. Za určitých podmínek, jako jsou vlhkost a vyšší teplota, jsou schopny plísně tvořit aflatoxiny na téměř každém organickém substrátu [6].

Taxonomicky je rod *Aspergillus* řazen mezi vřeckovýtrusné houby třídy Ascomycetes.

Říše:	Fungi (houby)
Oddělení:	Ascomycota
Třída:	Ascomycetes
Řád:	Eurotiales
Čeleď:	Trichocomaceae
Rod:	<i>Aspergillus</i>

4.1.1 *Aspergillus flavus*

Aspergillus flavus bývá obvykle označován jako skladištní plíseň. Detekce *A. flavus* se provádí pod ultrafialovým zářením, kde vykazuje zelenou fluorescenci. Na kultivačních médiích roste jako žlutozelená plíseň. *A. flavus* je nejčastějším původcem onemocnění aspergilózy.



Obrázek 1 *Aspergillus flavus* [7]

4.1.2 *Aspergillus parasiticus*



Obrázek 2 *Aspergillus parasiticus* [8]

Aspergillus parasiticus je další druh plísně rodu *Aspergillus*, který lze nalézt i v kultivované půdě. Může se dokonce izolovat ze semen běžných rostlin. Je ale těžké ho odlišit od *Aspergillus fllavus*.

Aflatoxinové zamoření, jakožto výsledek působení *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*, se vyskytuje především v tropických a subtropických oblastech, kde probíhá zdárný růst těchto plísní vzhledem k vysoké teplotě a vlhkosti zdejšího prostředí. Příkladem je kontaminace arašídových oříšků. V USA bývá napadeno 19 %, v Thajsku 54 % a na Filipínách dokonce 88 % z celkové „arašídové produkce“ [9].

Celosvětovým problémem jsou pak bavlníková semena, jež jsou považována za základní surovinu pro tukový průmysl. K hlavním producentům se řadí Spojené státy a Indie. V postižených lokalitách dosahuje kontaminace 80 až 100 % produkce.

Poměrně odolné vůči napadení plísní *Aspergillus flavus* jsou sojové boby.

Nejvyšší míra znehodnocení obilnin byla zaznamenána na Filipínách, kde činila asi 97 % produkce. Stupeň kontaminace obilnin je často podmíněn také nevhodným skladováním. Obecně vyšší napadení rostlin plísněmi úzce souvisí s celkově zhoršenými podmínkami při jejich pěstování, obzvláště trpí-li rostliny suchem, jsou-li použity nevhodné agrotechnické postupy a není-li dostatečně zajištěna ochrana proti hmyzu [6].



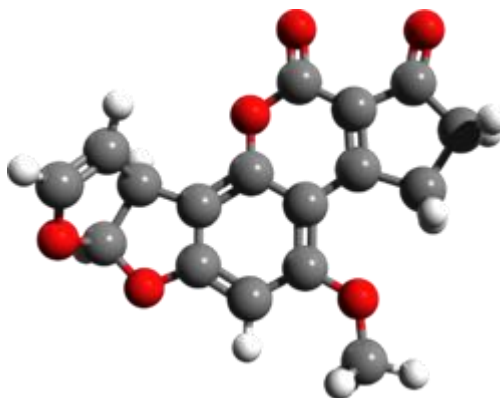
Obrázek 3 Kultivace *Aspergillus parasiticus* [10]

4.1.3 Rozdělení aflatoxinů

Aflatoxiny, jako sekundární produkty plísní *A. flavus* a *A. parasiticus*, byly postupně identifikovány ve čtyřech přirozených typech **AFB₁ (B₁)**, **AFB₂ (B₂)**, **AFG₁ (G₁)** a **AFG₂ (G₂)**. Další dva metabolické typy – **M₁** a **M₂** byly poprvé izolovány v mléku zvířat. Nejčastěji se vyskytující typ **B₁** může být akutně toxický, karcinogenní, mutagenní a teratogenní. Jeho akutní toxicita LD₅₀ se pohybuje 0,4 – 18 mg/kg, v závislosti na živočišném druhu. Při vysokých hladinách aflatoxinu **B₁** se toxicita projeví za 3 až 6 hodin jako nekróza hepatocytů, tedy poškození krevní srážlivosti a kapilární fragility. To může vést k širokým hemoragiím, případně i ke smrti jedince.

Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC/WHO), která kategorizuje jednotlivé mykotoxiny z hlediska karcinogenních účinků, prozatím hodnotí **B₁** jako prokázaný karcinogen pro člověka [6].

Označení B pro aflatoxiny **B₁** a **B₂** bylo určeno na základě modré fluorescence pod UV světlem, zatímco označení G získaly aflatoxiny, které mají žluto-zelenou fluorescenci pod UV zářením [6].



Obrázek 4 Aflatoxin B₁ [11]

Teplota tání aflatoxinu B₁: 268 °C

Sumární vzorec aflatoxinu B₁ : C₁₇H₁₂O₆

Molekulová hmotnost aflatoxinu B₁ : 312.28 g/mol

4.1.4 Výskyt aflatoxinů v potravinách

Aflatoxiny se vyskytují téměř všude. Rozšíření kontaminace aflatoxiny je poměrně značné i ve vyspělých zemích. Téměř samozřejmostí je pak výskyt aflatoxinů v zemích s velmi nízkou životní úrovní jako jsou např. Keňa, Nigérie, Ghana a další africké země. Hlavními faktory, nezbytnými pro růst a výskyt mykotoxinů jsou: vlhkost, teplota a nevhodné skladovací podmínky zemědělských plodin.

Jednou z nejrizikovějších surovin z hlediska výskytu aflatoxinů je kukuřice, která patří mezi základní suroviny zejména v evropských zemích. V dubnu roku 2004 došlo k 317-ti případům otravy aflatoxiny v Keni, z nichž 125 skončilo úmrtím. Hlavním zdrojem kontaminace byla domácí kukuřice. Z nejvíce postižených oblastí bylo v daném roce odebráno 350 vzorků z kukuřičných produktů od 243 prodejců. U 55 % těchto produktů byl zjištěn výskyt aflatoxinů. Bylo identifikováno, že hlavním důvodem kontaminace byla špatná posklizňová manipulace, hlavně v domácích prostorách a neinformovanost obyvatelstva o možném riziku kontaminace aflatoxiny [12].



Obrázek 5 Kontaminovaná kukuřice [13]

Další potravinou, která je intenzivně sledována, a to nejen pro výskyt aflatoxinů, je rýže. V Kanadě byly v roce 2008 odebrány vzorky od různých distributorů (USA, Pákistán, Indie, Thajsko), dodávajících rýži na kanadský trh. Odebráno bylo přibližně 200 vzorků rýže (bílá, červená, černá, jasmín, basmati a divoká rýže). Vzorky byly analyzovány na přítomnost aflatoxinů (AFB_1), ochratoxinů A (OTA) a fumonisinů (FB_1). Nejvyšší kontaminace

aflatoxinem AFB₁ byla zjištěna ve vzorcích hnědé rýže a basmati z Indie a Pákistánu a také ve vzorcích černé a červené rýže z Thajska. Vzorky černé rýže obsahovaly také ochratoxiny A (OTA) a fumonisiny (FB₁) [14].

Klimatické podmínky, jaké jsou například v Nigérii, kde roční teplota dosahuje v průměru 31,7 °C a průměrná vlhkost je pak 51,6 %, jsou zvláště příznivé pro růst plísní. Nigérie patří mezi státy s vysokou produkcí rýže. V letech 2007 a 2008 byli odebrány z 21 nigerijských vesnic vzorky rýže na analýzu mykotoxinů: aflatoxinu, ochratoxinu, zearaleninu, deoxynivalenolu, fumonisinů a patulinu. Průměrné hodnoty koncentrací těchto mykotoxinů v roce 2007 byly zjištěny: AFB₁ 200,19 mg/kg, ZEA 207,9 mg/kg a OTA 155,6 mg/kg. Přičemž přípustná koncentrace podle normy, kterou přijalo 77 zemí včetně Evropské unie je pro AFB₁ 10 mg/kg .

V roce 2008 již byla zaznamenána nižší koncentrace aflatoxinu AFB₁ a to 37,9 mg/kg, ZEA 10,4 mg/kg a OTA 141,9 mg/kg i když i tyto hodnoty převyšovaly přípustné limity [15].

Aflatoxiny produkované druhem *Aspergillus flavus* se mohou vyskytovat i v koření. Mezi nejrizikovější koření, které může být napadeno plísní, patří zázvor, černý pepř, hořčice, červená paprika a muškátový oříšek. Hřebíček patří mezi méně riziková koření vzhledem ke svému vysokému obsahu éterických olejů a antimikrobiálním vlastnostem.

Velmi nízké plísňové napadení bylo zjištěno také v aromatických listech z dřeviny *Murraya koenigii* – muraja známé pod lidovým názvem kari listy.

Potenciální riziko kontaminace potravin mykotoxiny z koření by však nastalo až při použití většího množství kontaminovaného koření [16].

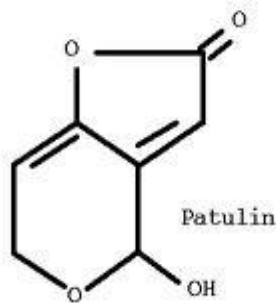
Aflatoxiny se mohou vyskytnout i v mléčných výrobcích. Zde se jedná o aflatoxiny AFM₁, jejichž výskyt není zanedbatelný. V Turecku v roce 2008 prokázali jak kontaminaci UHT mléka, kdy ze 100 vzorků bylo 67 % pozitivních na výskyt AFM₁, tak i kontaminaci sýrů, kde ze 100 odebraných vzorků bylo 82,6 % pozitivních na AFM₁ [17].

Živočišné tuky a oleje jsou v dnešní moderní době stále častěji nahrazovány rostlinnými oleji. Ty se kromě klasických plodin (řepka, slunečnice, olivy) získávají i z plodin méně tradičních – pistácií, vlašských ořechů, mandlí a sóji. Všechny výše uvedené plodiny patří do skupiny plodin snadno napadnutelných plísněmi. Nicméně kontaminace aflatoxiny

v olejích je minimální. Důvodem je rafinace olejů. I přesto je důležité zpracovávání a skladování vstupních produktů při získávání olejů, kam patří lisování a extrakce[18].

4.2 Patulin

Patulin je středně toxický, poškozuje zvláště žaludeční sliznice. V potravinách je indikátorem špatného výrobního postupu a zpracování kontaminovaných vstupních surovin. Zdrojem patulinu mohou být jablka a jablečná šťáva získaná lisováním jablek. Zničení mykotoxinu patulinu v jablečných moštech se může dosáhnout použitím oxidu siřičitého. Patulin produkují plísňe rodu *Penicillium* a *Aspergillus* [6].



Obr. 6 Chemický vzorec patulinu [19]

Rod *Penicillium* patří mezi nejrozšířenější rody plísní, který obsahuje asi 150 druhů, tvoří kolonie s velkým množstvím žlutozelených až modrozelených konidií, které jsou na potravinách a materiálech patrné jako sametové, až moučné povlaky.

Říše:	Fungi (houby)
Oddělení:	Eumycota
Třída:	Ascomycetes
Řád:	Eurotiales
Čeleď:	Trichocomaceae
Rod:	<i>Penicillium</i>

4.2.1 *Penicillium expansum*

Penicillium expansum se vyskytuje na ovoci, zejména na jablkách, hruškách, hroznovém vínu a také na zelenině, které byly poškozeny mechanicky, nebo hmyzem. Druh *Penicillium expansum* patří mezi nejčastější původce mykotoxinu patulinu.

Z tohoto důvodu *Penicillium expansum* ohrožuje kvalitu jablečných moštů a jiných jablečných výrobků [6].



Obr. 7 *Penicillium expansum* [20]

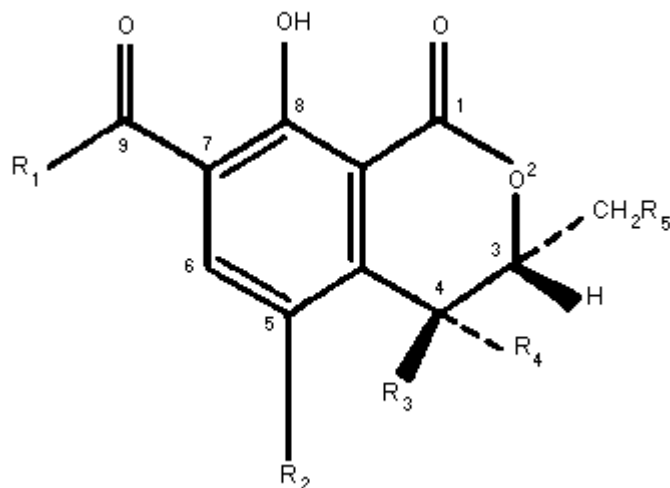
4.3 Ochratoxin A

Ochratoxin produkují hlavně plísně *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium viridicatum* a *Penicillium cyclopium*.

Ochratoxin se vyskytuje především v obilovinách. V České republice zatím nebyl výskyt ochratoxinu A prokázán. Daleko větší riziko kontaminace hrozí v jižních zemích. Vinná réva v Evropě bývá často napadena plísněmi *Aspergillus carbonarius* a *Aspergillus niger*, které také produkují ochratoxin A.

Pokud jsou k výrobě vína použity plísněmi kontaminované bobule vinné révy, vzniká kontaminace konečného produktu (vína) ochratoxinem A (OTA). Mezi další rizikové produkty potravinářského průmyslu a zemědělství, která mohou být kontaminovány ochratoxinem A patří káva, ořechy, rýže, ale ochratoxin A se může vyskytnout i ve formě rezidua ve vepřovém mase, především v ledvinách.

Ochratoxin A se řadí do skupiny karcinogenů se silným neurotoxickým a teratogenním účinkem. Ochratoxin A působí hlavně na nervovou soustavu [21],[22].



Obr.8 Chemický vzorec ochratoxinu A [23]

4.4 Zearalenon

Zearalenony vykazují nižší toxicitu ve srovnání s jinými mykotoxiny. Byly detekovány v kukuřici a dalších obilninách. Zearalenony jsou přenášeny i do mléka krav krmených kontaminovanou stravou. Zearalenon je ve skladovaném obilí velmi stabilní, zůstává nezměněn i po tepelném zpracování mouky, či fermentaci. Úspěšnějšími detoxikačními postupy jsou alkalizace a použití chlornanů [4].

Zearalenon produkují druhy *Fusarium sporotrichoids*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*. Zearalenon zvyšuje produkci estrogenu co má za následek snížení plodnosti zvířat. Na mykotoxin zearalenon jsou nejcitlivější prasnice.



Obr. 9 Chemický vzorec zearalenonu [24]

4.4.1 *Fusarium culmorum*

Rod *Fusarium* je velmi rozsáhlý a v přírodě rozšířený. Způsobuje rychlé zkažení ovoce i nemoci rostlin. Během vlhkého léta napadá obilí, což vede k velkým hospodářským ztrátám. Přítomnost mykotoxinů v obilí vylučuje i jeho použití pro krmné účely. *Fusarium culmorum* způsobuje kořenové hniloby u obilovin a napadá i uskladněné brambory a cukrovou řepu [4],[22].

Říše:	Fungi
Oddělení:	Ascomycota
Třída:	Ascomycetes
Řád:	Hypocreales
Čeleď:	Hypocreaceae
Rod:	<i>Fusarium</i>



Obr. 10 *Fusarium culmorum* [25]

Z hlediska účinku se jedná o fytotoxiny, a proto se uvažuje o jejich možném použití v nízkých koncentracích jako potenciálních přírodních herbicidů [6].



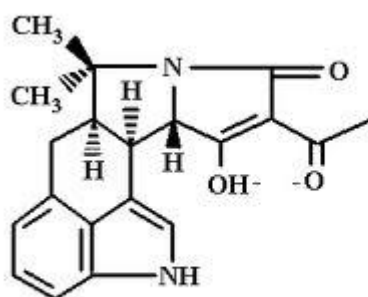
Obr.12 Kultivace *Fusarium moniliforme* [27]

4.6 Kyselina cyklopiazonová

Kyselina cyklopiazonová je produktem řady mikroskopických hub rodu *Aspergillus* a *Penicillium*. Biotoxinogenní kmeny *Aspergillus flavus* jsou schopny produkovat kyselinu cyklopiazonovou současně s aflatoxiny [6].

Kyselina cyklopiazonová je potenciálním inhibitorem syntézy bílkovin. Poškozuje gastrointestinální trakt, ledviny, játra a další orgány. Byly pozorovány i degenerativní změny myokardu a kosterního svalstva. V modelovém pokusu při krmení kuřecích brojlerů krmivem s podílem tohoto mykotoxinu bylo zjištěno, že se ve velkých koncentracích kumuluje právě ve svalové tkáni [6].

Kyselina cyklopiazonová byla dále identifikována v sýrech camembertského typu, kukuřici, arašidech, v krmných směsích, rýži a kroupách [6].



Kyselina cyklopiazonová

Obrázek 13. Chemický vzorec kyseliny cyklopiazonové [28]

4.7 Námelové alkaloidy

Námel je vývojovým stadiem parazitické houby paličkovice nachové (*Claviceps purpurea*). Námel se nejčastěji vyskytuje na žitě, rostoucím v nížinné, vlhké a zastíněné půdě, zvláště pokud jde o půdu nově obdělávanou. Výskyt námelu je zvyšován zvláště chladnými zimami, následovanými chladným a vlhkým růstovým obdobím.

Námel obsahuje více než 40 námelových alkaloidů. K hlavním významným námelovým alkaloidům patří ergotamin, ergosin, ergokristin, ergokryptin, ergokornin a ergometrin. Námelové alkaloidy jsou deriváty kyseliny lysergové. Námelové alkaloidy způsobují nemoc ergotizmus.

4.7.1 *Claviceps purpurea*

Claviceps purpurea parazituje na divoce rostoucích i kulturních travinách včetně obilovin a produkuje námelové alkaloidy. Její přezimující stádium sklerocium (námel), který obsahuje námelové alkaloidy.

Chladná zima oslabí rostliny žita a jarní vlhkost podporuje růst houby. Potenciálním zdrojem kontaminace by mohly být dovážené výrobky na bázi žita, a to zejména z oblastí, kde zemědělství a následná kontrola surovin je na nižší úrovni [6],[22].

Říše:	Fungi
Oddělení:	Ascomycota
Třída:	Sordariomycetes
Řád:	Hypocreales
Čeleď:	Clavicipitaceae
Rod:	<i>Claviceps</i>



Obrázek 14. *Claviceps purpurea* [29]

5 MYKOTOXIKÓZY

Mykotoxikóza je obecné označení pro onemocnění vyvolané plísněmi případně jejich toxiny.

5.1 Aspergilóza

Aspergilóza je označení pro typy onemocnění, které jsou způsobeny mykotoxiny, které produkují plísně *Aspergillus flavus* a *A. parasiticus*. Plíseň, jejíž spory se nachází ve vzduchu, může pro jedince s oslabeným imunitním systémem znamenat vysoký stupeň nebezpečí výskytu aspergilózy. Jedná se především o pacienty léčené chemoterapií, steroidy, pacienty po transplantaci, s cystickou fibrózou, HIV, AIDS, s chronickými plicními nemocemi, s těžkým astmatem a mnoho dalších. Zdroje rizika představují hlavně znečištěné klimatizace, vlhké bytové prostředí atd [30].

Aflatoxin B₁ (AFB₁) je nejtoxičtější a nejsilnější přírodní karcinogen působícím na játra. U lidí infikovaných virem hepatitidy B, už při kontaktu s aflatoxinem B₁, je až 30x vyšší riziko vzniku hepatocelulárního karcinomu (HCC, rakovina jater), který je třetí nejčastější příčinou úmrtí na rakovinu na celém světě. Akutní aflatoxikóza se vyznačuje vnitřním krvácením, akutním poškozením jater a edémem, přičemž při vysokých dávkách aflatoxinu dochází i k úmrtí takto postiženého jedince [31].

Reyův syndrom je polyetiologický chorobný stav, který lze vyvolat i některými léky (např. Acylpyrinem). Bylo prokázáno, že u řady kojenců do 1 roku života (a zejména do 6 měsíců), krměných umělou výživou, je příčinou tohoto syndromu aflatoxin. Onemocnění se vyznačuje rychlým přechodem do těžkého bezvědomí po horečnatém onemocnění s nespecifickými příznaky, připomínajícími virózu. V komatu se projeví současné těžké postižení jater a mozku, které může být příčinou smrti. Mechanismus kontaminace sušeného mléka pro kojeneckou výživu aflatoxiny dodnes není zcela objasněn [32].

V literatuře byly popsány i dva případy vrozeného Reyova syndromu, kdy se dítě s jeho příznaky narodilo a zemřelo do 24 hod. V obou případech šlo o matky pracující až do vysokého stupně těhotenství v živočišné výrobě. Ke kontaminaci mykotoxiny může docházet z krmiv, která jsou napadena plísněmi [32].

5.2 Ergotizmus

Ergotizmus je nemoc vznikající po požití potravin, které jsou kontaminovány námelem. Patří mezi nejstarší popsané mykotoxikózy. Ergotizmus se vyskytuje ve dvou formách - jako gangrenózní forma – „oheň sv. Antonína“ (je typická pro oblast jihozápadní Evropy) a konvulzivní forma se vznikem křečí (typická pro oblast severovýchodní Evropy) [33].

Ergotizmus není lehké diagnostikovat, jelikož má mnohočetné symptomy. Mezi příznaky mohou patřit mírné závratě, pocit tlaku v čelní oblasti hlavy, únava, deprese, bolesti v končetinách a bederní oblasti, které mohou dělat potíže při chůzi, svalovými bolestmi, střídavými pocity chladu a tepla. Riziko onemocnění člověka ergotizmem, po konzumaci cereálních potravin, je v našich podmínkách na základě současných poznatků minimální. Více jsou ohrožena hospodářská zvířata, která jsou přikrmována zbytky po čištění zrna, nebo při pastvě, kdy jsou traviny kontaminovány námelem [6],[33].

5.3 Alimentární toxická aleukie (ATA)

Alimentární toxická aleukie se vyskytuje v obilném pásu, táhnoucím se od jihu Sibíře až na Balkán. Největší epidemie byly zaznamenány ve 40. letech minulého století v tehdejším SSSR, kdy v důsledku válečných událostí zůstalo obilí na poli pod sněhem a sklízelo se až na jaře. Pod sněhem bylo obilí napadeno plísněmi rodu *Fusarium*. Tento rod může růst a produkovat mykotoxiny i při teplotě $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$. V důsledku nedostatku jiné potravy bylo konzumováno kontaminované obilí a dle oficiálních údajů zahynulo celkem 17 000 lidí [32].

Onemocnění je způsobeno T-2 toxinem, který je řazen k trichothecenovým mykotoxinům, které jsou produkovány plísněmi *Fusarium spp.* Onemocnění probíhá ve třech fázích. V první dochází k prudkému nástupu příznaků na bráně vstupu. Jde zpravidla o trávicí ústrojí, záněty sliznice, zvracení, průjemy. T-2 toxin však do organismu může proniknout i přes neporušenou pokožku. Ve druhé fázi se dostavuje zdánlivá úleva, doprovázená poklesem počtu krevních destiček a bílých krvinek. Ve třetí fázi jsou nemocní postiženi jednak

bakteriálními infekcemi, které jsou pro zdravého člověka neškodné a pak také krvácením (dokonce může dojít i vykrvácení žen během menstruace) [32].

Často bývají postiženy také krční mandle, odtud je choroba známa i pod synonymem "septická angína". Při chorobě je důležitý zejména přísun plnohodnotných bílkovin, poněkud kompenzující pokles proteosyntézy, vyvolaný trichotheceny [32].

5.4 Akutní kardiální beri - beri

Toto onemocnění bylo popsáno před r. 1910 a poté za 2. sv. války z bojů britských jednotek s Japonci v jižní Asii. Onemocnění se, stejně jako klasická beri-beri, projevuje křečemi a vzestupnou paralýzou [32].

Za příčinu onemocnění se dlouho považoval nedostatek vitamínu B₁. K otravám ovšem docházelo tak rychle, že zdraví vojáci, kteří dostali na oběd pokrm z rýže, zemřeli již druhý den. Jejich smrt tedy nemohl zapříčinit nedostatek vitamínu B₁. Později bylo zjištěno, že původcem onemocnění je právě mykotoxin citreoviridin, který produkuje plíseň *Penicillium citreoviride* [6].

Výrazná porucha srdečního rytmu, tzv. Wenckebachovy periody je onemocněním, jež může skončit úmrtím na zástavu srdce. Rýže je surovina, která bývá nejčastěji kontaminovaná plísní *Penicillium citreoviride* [32].

Toxin citreoviridin má jasně žlutou barvu, která je na rýži patrná. Vztah mezi žlutým zabarvením rýže a chorobou byl odborně popsán již počátkem minulého století, ale v japonštině publikované práce zcela zapadly. K poměrně snadné detoxikaci rýže dochází působením světla. V oblastech s výskytem "žluté rýže" je tato surovina vystavena v tenké vrstvě slunečním paprskům, čímž dochází k účinné detoxikaci, protože citreoviridin je silně fotolabilní [32].

6 OCHRANA PŘED MYKOTOXINY

Hlavní ochranou před kontaminací mykotoxiny je dodržování technologických postupů při zpracování surovin, výrobě a skladování potravin. Účinky mykotoxinů mohou být eliminovány působením některých chemických látek, které zabraňují vstřebávání mykotoxinů do organismu. Takovými sloučeninami jsou např. polyfenoly, kterým jsou připisovány antikarcinogenní účinky. Polyfenoly kromě jiných antioxidačních látek obsahuje zelený čaj. U zeleného čaje odborníci sledují spojitost míry jeho spotřeby s rizikem rakoviny jater přičemž se doporučuje vypít až 10 šálků denně. Jeho účinek však blokuje konzumace mléka, jelikož na mléko se navážou polyfenoly a tak se snižuje jejich účinnost [14].

Byl prokázán i antikarcinogenní účinek chlorofylu ze zeleniny. Bylo zjištěno, že u zvířat chlorofyl brání vstřebávání aflatoxinů během procesu trávení. Chlorofyl je schopen vázat další karcinogenní látky, jako jsou například polycyklické aromatické uhlovodíky. Byly navíc prokázány i jeho ochranné účinky proti poškození DNA a rakovině tlustého střeva [9].

Existuje stále více důkazů, že také některé bakterie mléčného kvašení (např. *Lactobacillus*) mají schopnost vázat aflatoxin B₁ [14].

Pro běžného spotřebitele, je důležité vybírat při nákupu potravin bez porušeného obalu, dále dodržovat jak skladovací podmínky, tak i dobu použitelnosti. Plesnivou potravinu je nutné okamžitě odstranit z prostoru, kde jsou jiné potraviny. Pro výrobu kompotů, kečupů a moštů je nutné vybírat ovoce a zeleninu, které nejsou napadeny plísní. Dodržovat správné technologické postupy při sterilizaci. I když je plíseň jen na povrchu, její toxiny snadno pronikají do celého objemu potravin. Nestačí proto plíseň pouze odebrat z povrchu. Mykotoxiny jsou látky velmi odolné vůči teplotám a nejsou odstraněny ani vařením a mražením. Plesnivé potraviny nelze použít ani ke zkrmování domácím zvířatům, toxiny mohou přejít do masa, mléka, nebo vajec a tím se dostávají dále do potravinového řetězce [1].

7 MYKOTOXIKÓZY U ZVÍŘAT

Z důvodu možné kontaminace potravinového řetězce mykotoxiny z masa hospodářských zvířat je nutné věnovat pozornost i mykotoxikózám u zvířat.

Mezi nejvíce vnímavá zvířata na mykotoxiny patří drůbež. Nepříznivé účinky na zdraví může mít i nepatrné množství kontaminace krmiva (např. kukuřice) plísněmi. Krůty jsou velmi citlivé na toxické a karcinogenní látky, ke kterým patří i aflatoxiny typu AFB₁. Aflatoxiny mají nežádoucí účinky nejen na růst a imunitu drůbeže, ale také na produkci vajec. Extrémní citlivost drůbeže na AFB₁ je předmětem různých studií, které napomáhají k rozvoji nových poznatků, vedoucích ke zvýšení odolnosti drůbeže vůči aflatoxinu [34].

V chovech skotu jsou následky výskytu plísní a vzniku mykotoxikóz velmi závažné. Poškozují sliznici střev, čímž omezují absorpci živin a zhoršují funkci jater, ledvin, reprodukčních orgánů a imunitního systému. Skot je vůči některým mykotoxinům odolnější než monogastriční zvířata, protože bachorová mikroflóra tyto látky z části rozkládá.

Bachorové mikroorganismy jsou však schopné transformovat mykotoxiny na jiné sloučeniny, např. AFB₁ mohou být konvertovány na AFM₁. Tento metabolit je pak vylučován do mléka a představuje vážné nebezpečí pro lidskou výživu [35].

Přítomnost mykotoxinů přijímaného nejen drůbeží, ale i velkými hospodářskými zvířaty, by měla být přísně hlídána. Je zde totiž přímá souvislost s použitím kontaminovaných krmiv a s následným výskytem reziduí mykotoxinů např. v mléce. Mezi riziková krmiva patří kukuřice a její siláže. Nutné je proto snížit pravděpodobnost výskytu plísní správným výběrem osiva, úpravou závlahového systému při pěstování obilovin i správnými postupy při jejich následném zpracování [34].

8 METODY STANOVENÍ MYKOTOXINŮ

Na stanovení mykotoxinů je navrženo několik metod, které se liší principem.

Pro analýzu mykotoxinů je v rámci ČR akreditována pouze jediná laboratoř a to Zdravotní ústav se sídlem v Pardubicích.

8.1 Mykologické metody

Mykologické metody jsou založeny na identifikaci plísní v surovinách a v potravinách pomocí kultivací a následné identifikaci pomocí mikroskopických technik.

8.1.1 Primokultivace

Jedná se o kultivaci vyšetřovaného substrátu na první záchyt. Výhodné je provádět ji na půdách s obsahem přírodních materiálů. Problémem takovýchto půd je však nekonstantnost. Oproti bakteriím je nutno počítat s delší dobou kultivace. Na většině běžných bakteriologických půd rostou mikroskopické houby pomalu nebo vůbec ne, proto je tato metoda méně citlivá. Dokonce i silně zaplísňené materiály se mohou při bakteriologické kultivaci jevit jako "sterilní"[32].

8.1.2 Izolace

Zachycené kmeny jsou následně izolovány na Petriho miskách. Problematická může být zejména izolace již sporulujících směsných kultur, protože výtrusný prach se snadno víří a kontaminuje prostředí i nářadí [32].

8.1.3 Determínce (určování) kmenů

Určování kultur mikroskopických hub je prováděno mikroskopicky podle morfologických charakteristik, ale identifikace je velmi obtížná proto se jí zabývají pouze specializovaná pracoviště [32].

8.2 Imunochemické metody

Imunochemické metody jsou založeny na reakci antigenu s protilátkou. Pro stanovení mykotoxinů v potravinách jsou tyto metodiky pracné a časově náročné. Často tyto technologie vyžadují znalosti a zkušenosti chromatografických technologií. Mykotoxiny lze v současné době stanovovat pomocí různých stripů během několika minut. Tyto testy jsou založeny na spojitosti s monoklonálními, nebo polyklonálními protilátkami pro jednotlivé mykotoxiny. Jsou to tři typy imunochemických metod – radioimunoanalýza (RIA), enzymoimunoanalýza (ELISA), a metoda pomocí imunoafinitních kolonek (ICA)[36].

8.2.1 Stanovení mykotoxinů pomocí imunoafinitních kolonek

Využití imunoafinitních kolonek pro stanovení mykotoxinů je díky jednoduchosti jejich použití a komerční dostupnosti velmi často používanou metodou pro screening i pro extrakci a zkoncentrování mykotoxinů před stanovením vysoko účinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) [36].

Metoda nevyžaduje speciální prostředí ani přítomnost vysoce odborného personálu, jelikož odečtení výsledků se provádí na displeji fluorometru, případně je zaznamenána tiskem. Po přípravě a extrakci vzorku, které jsou časově závislé na složitosti matrice, je stanovení prováděno za méně než 10 minut. Vyniká velkou přesností a spolehlivostí v celé škále koncentrací od 0,1 do 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ [36].

8.2.2 Radioimunoanalýza (RIA)

Počátkem šedesátých let minulého století bylo pro analýzu mykotoxinů využito značení protilátek radioaktivními izotopy. V průběhu sedmdesátých let došlo k velkému rozvoji použití této metody v medicíně a později i v dalších oborech. Přetrvávající problematika zacházení s radioaktivními odpady, jejich sběr a likvidace, nutnost zvláštního vybavení laboratoří s důrazem na bezpečnost personálu však navyšovala cenu provedených testů tak, že RIA nemohla konkurovat metodám využívajícím enzymaticky značené reagenty.

V dnešní době nachází využití při sledování metabolismu a jiných aplikacích, kde nelze použít enzymatické značení a tam, kde se dá předpokládat rozumná návratnost investic [36].

8.2.3 ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

ELISA je imunochemická metoda sloužící k analýze potravin pro zjištění přítomnosti antigenu (analytu) ve vzorku prostřednictvím jeho biospecifické interakce s protilátkou. Detekce produktu enzymatické reakce slouží ke sledování tohoto procesu. Pro rozpoznání vzniku komplexu „antigen – protilátka“ se používá značení jednoho z reaktantů enzymem. Enzym vytvoří se svým přidaným substrátem barevný produkt, který se změří spektrofotometricky. Mezi nejčastěji používané kombinace enzym – substrát patří křenová peroxidáza (HRP), tetramethylbenzidin (TMB), alkalická fosfatáza (AP) a její substrát p-nitrofenyl fosfát (pNPP) [36].

TMB způsobuje modré zbarvení s maximem absorpce při 650 nm, při zastavení reakce v části jamek kyselinou pak žluté zbarvení s maximem absorpce při 450 nm. Absorbance se proměřuje primárně při 450 nm a referenčně při 650 nm.

Enzymatickou reakcí vytvoří pNPP žluté zbarvení s absorpčním maximem při 450 nm. S ohledem na vzrůstající požadavky na efektivní kontrolu kontaminantů v potravním řetězci vzrůstá potřeba zavádění postupů umožňujících rychlé a cenově přijatelné screeningové vyšetření různých kombinací analyt/matrice. Jak již bylo zmíněno, metoda ELISA byla vyvinuta pro širokou řadu kontaminantů [36].

8.3 Chromatografické metody

8.3.1 Chromatografická metoda HPLC (high-performance liquid chromatography).

Zkratka HPLC je označení pro vysoko účinnou kapalinovou chromatografii. Chromatografická technika slouží k separaci složek vzorku, za účelem stanovení jejich přítomnosti i koncentrace ve vzorku. Může sloužit i k izolaci jednotlivých složek směsi (tzv. preparativní chromatografie). Separační metody jsou většinou založeny na rozdílné distribuci děle-

ných látek mezi dvěma různě nemísitelnými fázemi. Tyto metody zvyšují selektivitu a specifičnost v analytické chemii. Lze je využít pro kvalitativní i kvantitativní analýzu [36].

8.3.2 Chromatografie na tenké vrstvě

Chromatografie na tenké vrstvě (TLC), je jednou z nejrozšířenějších separačních technik v analýze mykotoxinů [36].

9 PREVENCE PROTI KONTAMINACI MYKOTOXINY

Metody k ochraně proti plísním se stále vyvíjejí a zdokonalují. V současné době je vyvíjeno několik metod pro ošetření obilí a krmných produktů kontaminovaných mykotoxiny. Existuje ale několik omezení, spojených s každou metodou.

- Amonifikace

Jedna z potenciálních možností ošetření plodin je aplikace amoniaku (amonifikace) pro kontaminovanou kukuřici, arašídů, bavlníková semena a moučky. Ve světě je již používána. Byla označena jako účinná u již kontaminované kukuřice [14].

- Použití oxidu chloričitého

Další metodou je používání plynného oxidu chloričitého (ClO_2) při vyšších koncentracích a působením déle než 24 hodin. Plynný oxid chloričitý zabraňuje růstu určitých druhů plísní [9].

- Použití ozónu

Alternativními metodami jsou - používání ozónu (O_3) a gamma záření [14].

- Použití absorbentů

Přidání absorbentů ke kontaminované plodině je zvažováno jako jedna z potenciálních možností pro omezování mykotoxinové toxicity. Absorbenty se váží na mykotoxiny a tak zabraňují jejich absorbování hospodářskými zvířaty. Mezi používané absorbenty patří jíly, bentonit, montmorillonit, zeolit, fylosilikáty, aktivní uhlí a syntetické polymery, jako například cholestyamin a polyvinylpyrrolidon.

- Inhibitory plísní

Inhibitory plísní, jako jsou například kyselina propionová, potravinářské fosfáty, kysličník siřičitý, kyselý uhličitán sodný, kyselina sorbová a sorbát draselný, dillapiol a apiol a diocatin-A, mohou být používány pro zabraňování syntéz mykotoxinů u různých plodin. Při použití inhibitorů diocatinu-A, aflastatinu-A, dillapiolu a Apiollu byl prokázán velmi dobrý výsledek při testech s plísní *Aspergillus parasiticus* [14].

- Použití geneticky modifikovaných plodin

Další možností, jak předejít kontaminaci plodin, je použití geneticky modifikovaných plodin odolných vůči působení plísní. Výzkum a vývoj těchto metod je stále v počáteční fázi i přesto, ale bylo dokázáno, že geneticky upravená kukuřice je o 90-98 % odolnější na aflatoxiny. U podzemnice olejné byla genetickou úpravou zvýšena odolnost o 70 %. Důležité je však stále rozlišovat mezi plodinami přirozeně odolnými a plodinami specificky upravenými, mezi jejichž největší zápory patří samozřejmě vysoké náklady na jejich produkci [37].

- Biologická ochrana

K největším úspěchům v biologické ochraně proti aflatoxinům patří použití zrn pšenice či rýže, které se sterilizují a naočkují netoxickými kmeny *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*. Posléze se inkubují a suší při teplotě 50°C . Uskladnění zrn pak probíhá následně při teplotě 5°C až do jejich použití. Obilí je pak aplikováno na pole, přičemž netoxické kmeny rychleji obnoví svůj růst než toxické kmeny. Dochází pak k vytlačování toxických kmenů z plodin těmito netoxickými kmeny *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* [37].

10 BEZPEČNOST POTRAVIN

Pro posuzování kontaminace mykotoxiny v potravinách je závazné nařízení komise (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. Nařízení vstoupilo v platnost 09/01/2007.

Většina států přijala legislativní limity koncentrací mykotoxinů v potravinách. Ty však často spíše odrážejí analytické možnosti než dokonalé poznání zdravotního významu. Jeden z největších problémů je nalezení limitů přijatelných jak pro konzumenta, tak pro výrobce [2].

Vědecký výbor pro potraviny ve svém stanovisku z 23. září 1994 uvedl, že aflatoxiny jsou genotoxické karcinogeny. S ohledem na toto stanovisko je vhodné omezit jak celkový obsah aflatoxinů v potravinách (suma obsahů aflatoxinu B₁, B₂, G₁ a G₂), tak i obsah samotného aflatoxinu B₁, neboť aflatoxin B₁ je zdaleka nejtoxičtější sloučeninou. V případě aflatoxinu M₁ v potravinách pro kojence a malé děti by případné snížení stávajícího maximálního limitu 0,025 µg/kg mělo být posouzeno s ohledem na vývoj analytických postupů [2].

Maximální limit 2 µg/kg aflatoxinu B₁ a 4 µg/kg celkového aflatoxinu, byl stanoven pro všechny obiloviny a všechny výrobky pocházející z obilovin, s výjimkou kukuřice, jež má být před použitím k lidské spotřebě tříděna, nebo jinak fyzikálně ošetřena, pro niž byl stanoven maximální limit 5 µg/kg aflatoxinu B₁ a 10 µg/kg celkového aflatoxinu. Obsah aflatoxinů v rýžových v plevách pravidelně přesahuje maximální limity [2].

Další povolené maximální limity pro mykotoxiny jsou uvedené v Tabulce č.2

Tab. č. 2 Maximální limity mykotoxinů v potravinách [38],[39]

Mykotoxiny	Potraviny	Maximální limity $\mu\text{g}/\text{kg}$
<i>Ochratoxin A</i>	Výrobky z obilovin	0,5
	Sušené hrozny	10
	Víno	2
	Rozpustná káva	10
	Muškatový oříšek	15
	Lékořice	20
<i>Patulin</i>	Výrobky z obilovin	50
	Ovocné šťávy	50
	Pečivo	50
<i>Zearalenon</i>	Výrobky z obilovin	20
	Pečivo	50
	Mouka	75
<i>Fumonisy součet B₁ a B₂</i>	Výrobky z obilovin	200

ZÁVĚR

Alimentární nákazy představují nejen závažný zdravotnický, ale i ekonomický problém. Jejich výskyt může úzce souviset se způsobem zpracování potravinářských surovin, jejich výrobou a podmínkami při jejich přepravě a skladování. Velmi závažným problémem může být zabezpečení přísných hygienických zásad pro zabránění kontaminace potravinářských surovin a potravin plísněmi, které představují pro lidský organizmus velké nebezpečí z důvodu produkce toxinů. V uplynulých desetiletích bylo prokázáno více než sto tisíc různých mikroskopických plísní, jejichž toxiny, způsobují závažná onemocnění, včetně rakoviny. Zvířata, která byla krmena potravou napadenou plísněmi, trpí oslabeným imunitním systémem a zhoršenou produktivitou. Velké nebezpečí představuje situace, kdy se toxiny z plísní dostanou přes zažívací trakt hospodářských zvířat např. do mléka a tím se pak stávají součástí potravinového řetězce. Riziko představuje také dovoz potravin ze zemí, kde klimatické podmínky umožňují rozmnožování mikroskopických hub. Většinou se jedná o rozvojové země, kde se i díky špatné informovanosti dostávají do obchodní sítě napadené plodiny.

Při všeobecném náhledu na problematiku boje s mykotoxiny je třeba vzít v úvahu dva rozdílné aspekty. Na jedné straně je pozitivním aspektem pečlivější sledování kvality potravin, zpřísnování limitů koncentrace již známých mykotoxinů a lepší mediální informovanost spotřebitele. Na straně druhé je to riziko výskytu dosud neobjevených mykotoxinů, úsporná opatření při výrobě a zpracování kontaminovaných plodin v době hospodářské krize a v neposlední řadě i chování spotřebitelů samotných.

Nadále se vyvíjí nové metody pro stanovení přítomnosti mykotoxinů a také způsoby ochrany kulturních plodin proti napadení mikroskopickými houbami.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] Zdravotní ústav Hradec Králové: *Co jsou mykotoxiny a proč se sledují?!* [online]. c2012 [citováno 12.02. 2012]. Dostupný z:

<http://www.zuhk.cz/mykotoxiny>

[2] Nařízení komise (EU)č. 165/2010.: *Nařízení komise (EU)č. 165/2010 ze dne 26. února 2010. kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, pokud jde o aflatoxin.* [online]. c2012 [citováno 2. 3. 2012]. Dostupný z:

<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:050:0008:0012:CS:PDF>

[3] Herzig, I., Suchý, P., Straková, E.: *Vliv mykotoxinů sterigmatocystinu, moniliforminu, diacetoxyscirpenolu, phosmopsinu A a toxinů mikromycet rodu Alternaria na zdraví zvířat a bezpečnost potravin. Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i. Praha: 2008.* [online]. c2012 [citováno 4. 4. 2012]. Dostupný z:

<http://www.vuzv.cz/sites/File/vybor/Vliv%20mykotoxin%C5%AF%20sterigmatocystinu%20%20moniliforminu%20%20diacetoxyscirpenolu%20%20phosmopsinu%20A%20a%20toxin%C5%AF%20mikromycet.pdf>

[4] Hrdina, V., Hrdina, R., Jahodář, L., Martinec, Z., Měrka, V. *Přírodní toxiny a je-dy.* Praha: Galén, 2004. ISBN 80-7262-256-0

[5] Ostrý, V. *Centrum hygieny potravinových řetězců v Brně, Státního zdravotního ústavu v Praze.* [online]. c2012 [citováno 4.4. 2012]. Dostupný z:

<http://www.stripky.cz/537-plisne-potraviny.html>

[6] Biotox.cz: *Limity mykotoxinů v potravě.* [online]. c2012 [citováno 26. 2. 2012]. Dostupný z:

<http://www.biotox.cz/toxikon/mikromycety/limity.php>

[7] *Asprgillus flavus.* [online]. c2012 [citováno 2. 2. 2012]. Dostupný z: <http://images.google.com/search?tbm=isch&hl=cs&source=hp&biw=642&bih=421&q=asprgil-lus+flavus>

- [8] *Aspergillus parasiticus*. [online]. c2012 [citováno 2.2.2012]. Dostupný z <http://www.cas.org/aboutcas/colors/2010colors.html>
- [9] Oluwafemi F., Ibeh, I., N. Microbial contamination of seven major weaning foods in Nigeria. *Journal of health population and nutrition*. 2011, vol. 29, no 4.,p. 415-9. ISSN 1093-4529
- [10] *Aspergillus parasiticus*. [online]. c2012 [citováno 2.2.2012]. Dostupný z : http://www.livne.co.il/thesis/fungi_pictures/aspergillus/index.html
- [11] Aflatoxin. [online]. c2012. [citováno 2.2.2012]. Dostupný z : http://en.wikipedia.org/wiki/File:Aflatoxin_b1_3d_structure.png
- [12] Daniel, J., H., Lewis, L., L., Redwood, Y., A., Kieszak, S., Breiman, R., F. Flanders, W., D., Bell, C., Mwihi, J., Ogana, G., Likimani, S., Straetemans M., McGehehin, M., A.: Comprehensive Assessment of Maize Aflatoxin Levels in Eastern Kenya, 2005–2007. *Environmental health perspectives*. 2011, vol. 119, no.12, p. 1794 – 1799. ISSN 0091-6765
- [13] Kontaminovaná kukuřice .[online]. c2012. [citováno 2.2.2012]. Dostupný z : <http://www.ipm.iastate.edu/im/icm/2005/9-19/aflatoxin.html>
- [14] Bansal, J., Pantazopoulos, P., Tam, J., Pavlovic, P., Kong, K., Turcotte, A., M., Lau, B., P., Scoty, P., M.: Surveys of rice sold in Canada for aflatoxins, ochratoxin A and fumonisins. *Food Additives and Contaminants*. 2011, vol 28, no. 6, p. 767 – 778. ISSN: 1464-5122
- [15] Makun, H., A., Dutton, M., F., Njobeh, P., B., Mwanza M., Kabiru, A., Y. Natural multi-occurrence of mycotoxins in rice from Niger State, Nigeria. *Mycotoxin Research*. 2011, vol. 27, no. 2, p. 97- 104. ISSN: 1867-1632
- [16] Hashem,M., Alamri,S. Contamination of common spices in Saudi Arabia markets with potential mycotoxin producing fungi. *Saudi Journal of Biological Science*. 2010 vol. 17, p.167–175. ISSN 1319-562

[17] Tekinsen, K., K., Eken, H., S. Aflatoxin M1 levels in UHT milk and kashar cheese consumed in Turkey. *Food and chemical toxicology*. 2008, vol. 46, no. 10, p. 3287-9. ISSN 0278-6915

[18] Mahoney, N., Molyneux, R., J. Rapid analytical method for determination of aflatoxins in plant-derived dietary supplement and cosmetic oils. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2010, vol. 58, no.7, p. 4065-70. ISSN 1520-5118.

[19] Patulin .[online]. c2012. [citováno 10.3.2012]. Dostupný z :
<http://services.leatherheadfood.com/eman/FactSheet.aspx?ID=70>

[20] *Penicillium expansum*. .[online]. c2012. [citováno 10.3.2012]. Dostupný z :
<http://www.psmicrographs.co.uk/mould-fungus--penicillium-expansum-/science-image/80200576>

[21] Baroň, M., Hajdučík, J. *Ochratoxín A v Európskej únii a u nás, jeho zákonné limity a spôsoby eliminácie*. Ústav vinohradníctví a vinařství, MZLU Brno.[online]. c2012 [citováno 26. 2. 2012]. Dostupný z:
<http://www.enolog.cz/ochratoxin-a-v-eu-a-cr>

[22] Šilhánková, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Praha: Academia, 2009, ISBN 978-80-200-1703-1

[23] Ochratoxinu A [online]. c2012. [citováno 6.3.2012]. Dostupný z :
[http://www.wikiskripta.eu/index.php/Kontaminanty_potravin_\(1._LF,_NT\)](http://www.wikiskripta.eu/index.php/Kontaminanty_potravin_(1._LF,_NT))

[24] Zearalenon. [online]. c2012. [citováno 12.3.2012]. Dostupný z :
<http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/8/bc/vlu/biotoxine/mykotoxine.vlu/Page/vsc/de/ch/8/bc/biotoxine/mykotoxine.vscml.html>

[25] *Fusarium culmorum*. [online]. c2012. [citováno 12.3.2012]. Dostupný z :
<http://www.flickr.com/photos/48703406@N00/503224180/>

- [26] Fumonisinu. [online]. c2012. [citováno 12.3.2012]. Dostupný z :
<http://www.biotox.cz/toxikon/mikromycety/fumonisin.php>
- [27] *Fusarium moniliforme*. [online]. c2012. [citováno 6.3.2012]. Dostupný z :
<http://www.flickr.com/photos/sruilk/6869086657/>
- [28] kyselina cyklopiazonová. [online]. c2012. [citováno 5.4.2012]. Dostupný z :
http://www.med.muni.cz/prelek/MYKOTW/mtpr_idx.htm
- [29] *Claviceps purpurea*. [online]. c2012. [citováno 5.4.2012]. Dostupný z :
<http://www.dipbot.unict.it/sistematica/Clavice.html>
- [30] Wikipedie, Otevřená encyklopedie. *Aspergillus* .[online]. c2012 [citováno 2. 3. 2012]. Dostupný z :
<http://cs.wikipedia.org/wiki/Aspergillus>
- [31] Liu, Y., Wu, F. Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: a risk assessment. *Environmental Health Perspective*. 2010, vol.118 no. 6, p. 818–824. ISSN 0091-6765
- [32] Šimůnek, J., Mykotoxikózy. *Wikipedie otevřená encyklopedie*. Dostupné z:
<http://www.med.muni.cz/prelek/MYKOTW/mtonem.htm>
- [33] Ostrý, V. Mikroskopické vláknité houby. *Vesmír*. 2000, vol.79, no.4, p 187. ISSN 1214-4029
- [34] Klein, P., J., Buckner R., Kelly, J., Coulombe, R., A. Biochemical basis for the extreme sensitivity of turkeys to aflatoxin B(1). *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2000, vol15, no.165, p. 45-52. ISSN 0041-008X
- [35] Pecková, R. *Studium účinků mykotoxinů u přežvýkavců na zdraví a užitkovost*. Brno 2009. Bakalářská práce. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Agromická fakulta, Ústav výživy zvířat a pícninářství. Vedoucí práce Prof. MVDr. Ing. Petr Doležal, CSc.

[36] Stejskal, V. Hajšlová, J., Kocourek, V. *Bioanalytické metody pro hodnocení bezpečnosti zemědělských surovin a produktů*. Výzkumní ústav rostlinné výroby, v.v.i. 2008. [online]. c2012 [citováno 15. 4. 2012]. Dostupný z :

<http://www.phytopsanitary.org/projekty/2008/Projekt2.pdf>

[37] Yin, Y., N., Yan, L., Y., Juana, J., H., Ma, Z., H. Biological control of aflatoxin contamination of crops. *Journal of Zhejiang University Science B*. 2008, vol.9, no.10, p. 787–792. ISSN 1862-1783

[38] Food Survey Information Sheet: 02/11. Mycotoxins in Foods for infants and young children, Patulin in apple juice and ergot alkaloids in cereals products. *Food Standards Agency*. [online]. c2012 [citováno 23. 4. 2012]. Dostupný z:

<http://www.techportal.cz/2/1/studie-fsa-vyskyt-mykotoxinu-v-potravinach-cid270472/>

[39] Nařízení Komise (EU) č. 105/2010 ze dne 5. února 2010, kterým se mění nařízení (ES) č. 1831/2003, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, pokud jde o ochratoxin. [online]. c2012 [citováno 2. 4. 2012]. Dostupný z:

<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:035:0007:0008:CS:PDF>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

LD50	Význam první zkratky.
DAS	diacetoxyscirpenol
AFB ₁ (B ₁)	Aflatoxin B ₁
AFB ₂ (B ₂)	Aflatoxin B ₂
AFG ₁ (G ₁)	Aflatoxin G ₁
AFG ₂ (G ₂)	Aflatoxin G ₂
AFM ₁ (M ₁)	Aflatoxin M ₁
AFM ₂ (M ₂)	Aflatoxin M ₂
OTA	ochratoxin A
IARC/WHO	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny
FB ₁	Fumonisin B ₁
ATA	Alimentární toxická aleukie
RIA	imunochemická metoda - radioimunoesejí
ELISA	imunochemická metoda - enzymoimunoanalýzy
ICA	imunochemická metoda - imunoafinitních sloupci testu
HPLC	kapalinová chromatografie
TLC	chromatografie na tenké vrstvě
ClO ₂	oxid chloričitý
HRP	křenová peroxidáza
TMB	tetramethylbenzidin
AP	alkalická fosfatáza
HRP	křenová peroxidáza
pNPP	substrát p-nitrofenyl fosfát

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1. <i>Aspergillus flavus</i>	20
Obrázek 2. <i>Aspergillus parasiticus</i>	20
Obrázek 3. Kultivace <i>Aspergillus parasiticus</i>	21
Obrázek 4. Aflatoxin B ₁	22
Obrázek 5. Kontaminovaná kukuřice.....	23
Obrázek 6. Chemický vzorec Patulinu.....	25
Obrázek 7. <i>Penicillium expansum</i>	26
Obrázek 8. Chemický vzorec ochratoxinu A.....	27
Obrázek 9. Chemický vzorec zearalenonu.....	28
Obrázek 10. Kultivace <i>Fusarium culmorum</i>	29
Obrázek 11. Chemický vzorec fumonisinu.....	30
Obrázek 12. Kultivace <i>Fusarium moniliforme</i>	31
Obrázek 13. Chemický vzorec kyseliny cyklopiazonová.....	32
Obrázek 14. <i>Claviceps purpurea</i>	33

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1. Plísně, produkující mykotoxiny16

Tabulka 2 Maximální limity mykotoxinů v potravinách.....46