

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

MYKOTOXINY A LIDSKÉ ZDRAVÍ

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. Konečná Klára, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Klaban Vladimír

HRADEC KRÁLOVÉ, 2014

Iva Roudná

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci jsou řádně citovány. Práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové

Iva Roudná

Poděkování

Děkuji váženému panu RNDr. Vladimíru Klabanovi, který mě svojí vlastní vědeckou tvorbou motivoval k systematické činnosti. Jeho odborné vedení, trpělivost a ochota přispěly k vytvoření mé práce. Také děkuji ochotné paní Mgr. Kláře Konečné, Ph.D. za odbornou a formální korekci, hlavně za její čas a lidské porozumění.

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Kandidát: Roudná Iva

Školitel: Mgr. Konečná Klára, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Klaban Vladimír

Název bakalářské práce: Mykotoxiny a lidské zdraví

Předkládaná bakalářská práce se zabývá nejen obecně, ale současně i konkrétně všemi aspekty biosyntézy mykotoxinů a jejich negativním působením nejen na člověka, ale i na domácí a hospodářská zvířata z hlediska živočišné výroby.

Nejdříve jsou mykotoxiny obecně definovány a představeny jako kontaminující substance v životním prostředí člověka a rovněž je zmíněno i případné zneužití mykotoxinů při bioteroristických akcích. Potom následuje obecné pojednání o mikromycetech a jejich významu nejen jako producentů nebezpečných mykotoxinů, ale je popsáno i pozitivní využití mikromycetů v potravinářství, v moderních biotechnologiích, v biologické ochraně rostlin, ale i při čištění odpadních vod. Velká pozornost je rovněž věnována patogennímu působení mikromycetů, neboť mohou způsobovat různá mykotická a alergická onemocnění.

Následuje kapitola o producentech (zdrojích) mykotoxinů. Práce se zabývá zejména třemi nejdůležitějšími rody plísní tvořících mykotoxiny: rody *Aspergillus*, *Fusarium* a *Penicillium*. Důležité druhy v rámci těchto rodů jsou popsány nejen z hlediska jejich makroskopických vlastností, ale také i z aspektu jejich mikroskopické stavby.

Vlastní kapitola o mykotoxinech uvádí jednotlivé důležité mykotoxiny: jejich chemickou stavbu, ale i fyzikální vlastnosti, výskyt v potravinách a krmivech a jejich toxikologické působení. Potom logicky následuje pojednání o stanovení mykotoxinů nejen metodami instrumentální analýzy, ale i metodami imunologickými. Poslední část práce se zabývá způsoby omezení výskytu plísní, ale i metodami destrukce (inaktivace) mykotoxinů.

Klíčová slova: mykotoxiny, mykotoxikózy, mikromycety, analytika mykotoxinů

ABSTRACT

Charles University in Prague

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biological and Medical Sciences

Candidate: Roudná Iva

Supervisor: Mgr. Konečná Klára, Ph.D.

Adviser: RNDr. Klaban Vladimír

Title of the bachelor thesis: Mycotoxins and human health

This bachelor thesis deals with all aspects of the mycotoxin biosynthesis and with the negative effect of mycotoxins not only on the human organism but also on domestic and farm animals from the point of view of animal husbandry.

In the first part of the thesis mycotoxins such as contaminant substances in the human environment are introduced and defined and possible misuse of mycotoxins in terrorist attacks is also mentioned. This is followed by a general description of micromycetes and their significance not only as producers of dangerous mycotoxins, but also the positive use of micromycetes in food production, modern biotechnologies, in biological plant protection as well as in the sewage treatment are also discussed. A great attention is also given to the pathological effects of micromycetes because they can cause various different mycotic and allergic disorders.

The following chapter deals with the sources of mycotoxins. The thesis particularly deals with the three most important genera of mycotoxin-producing moulds: *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium*. Important species within the three mentioned genera are described from the point of view of their macroscopic properties as well as their microscopic structure.

The chapter dedicated to mycotoxins presents the individual important mycotoxins, their chemical structure, but also physical properties, their occurrence in both the human and animal food as well as their toxicological effects. Consequently, a description of the detection and determination by the way of instrumental analysis as well as by immunological methods comes after. The last section of the thesis concentrates on the limitation of mould incidence and on the methods of the inactivation or the destruction of mycotoxines.

Key words: mycotoxins, micromycetes, mycotoxicoses, mycotoxin detection

Obsah

Obsah	6
Zadání – cíl práce	10
1 Úvod	11
2 Mykotoxiny a jejich význam pro člověka	12
2.1 Negativní dopad mykotoxinů na pracovní a životní prostředí člověka	12
2.1.1 Mykotoxiny jako původci onemocnění člověka a zvířat	12
2.1.2 Mykotoxiny jako kontaminanty životního prostředí člověka	12
2.1.3 Zneužití mykotoxinů jako biologických zbraní	13
2.2 Pozitivní hledisko přítomnosti mikromycet v životním a pracovním prostředí člověka.	13
2.2.1 Mikromycety jako přirozená součást ekosystémů	13
2.2.2 Mikromycety jako zdroj antibiotik a jejich využití v moderních biotechnologiích	13
2.2.3 Využití mikromycet v potravinářství a při výrobě nápojů	14
2.2.4 Využití mikromycet v biologické ochraně rostlin	14
2.2.5 Využití mikromycet v problematice čištění odpadních vod	14
3 Zdroje mykotoxinů	15
3.1 Rod <i>Aspergillus</i>	15
3.1.1 <i>Aspergillus candidus</i>	16
3.1.2 <i>Aspergillus niger</i>	17
3.1.3 <i>Aspergillus ochraceus</i>	18
3.1.4 <i>Aspergillus fumigatus</i>	18
3.1.5 <i>Aspergillus flavus</i>	19
3.1.6 <i>Aspergillus versicolor</i>	20
3.1.7 <i>Aspergillus clavatus</i>	21
3.1.8 <i>Aspergillus repens</i>	21
3.2 Rod <i>Fusarium</i>	22
3.2.1 <i>Fusarium avenaceum</i>	23
3.2.2 <i>Fusarium culmorum</i>	24

3.2.3	Fusarium graminearum	24
3.2.4	Fusarium oxysporum.....	25
3.2.5	Fusarium poae	26
3.2.6	Fusarium solani	27
3.2.7	Fusarium sporotrichioides	27
3.3	Rod <i>Penicillium</i>	27
3.3.1	Penicillium glabrum.....	29
3.3.2	Penicillium roqueforti	29
3.3.3	Penicillium chrysogenum.....	30
3.3.4	Penicillium aurantiogriseum	31
3.3.5	Penicillium expansum	32
3.3.6	Penicillium marneffeii.....	32
4	Toxinogenní mikromycety a jejich význam pro člověka	33
4.1	Patogenní působení vláknitých mikromycetů	33
4.1.1	Mykózy vyvolané vláknitými mikromycetami	33
4.1.2	Mykotoxikózy	34
4.1.2.1	Onemocnění ze žluté rýže	34
4.1.2.2	Alimentární toxická aleukie (ATA)	34
4.1.2.3	Ochratoxikóza	35
4.1.2.4	Stachybotryotoxikóza.....	35
4.1.3	Mykoalergie	35
5	Charakteristika mykotoxinů	36
5.1	Závislost produkce mykotoxinů na fyzikálních, chemických a biologických faktorech	37
5.2	Vzájemné interakce mykotoxinů.....	39
5.3	Obecné rozdělení mykotoxinů podle typu jejich toxicity	39
5.3.1	Akutní a chronické účinky	39
5.3.2	Pozdní toxické účinky	40
6	Nejdůležitější mykotoxiny a jejich charakteristika	42
6.1	Aflatoxiny	42
6.1.1	Základní chemická a fyzikální charakteristika vybraných aflatoxinů	43

6.1.1.1	Aflatoxin B ₁	43
6.1.1.2	Aflatoxin G ₁	44
6.1.1.3	Aflatoxin M ₁	45
6.1.1.4	Aflatoxikol	46
6.1.2	Výskyt aflatoxinů v potravinách, krmivech a v potravinových surovinách.....	47
6.1.3	Toxické účinky aflatoxinů.....	47
6.2	Ochratoxin A.....	49
6.2.1	Základní chemická a fyzikální charakteristika ochratoxinu A	49
6.2.2	Výskyt ochratoxinu A v potravinách, krmivech a v potravinových surovinách .	50
6.2.3	Toxické účinky ochratoxinu.....	50
6.3	Patulin (klaviformin, clavacin).....	52
6.3.1	Základní chemická a fyzikální charakteristika patulinu.....	52
6.3.2	Výskyt patulinu v potravinách, krmivech a v potravinových surovinách	52
6.3.3	Toxické účinky patulinu.....	53
6.4	Fumonisiný.....	54
6.4.1	Základní chemická a fyzikální charakteristika fumonisinu B ₁	54
6.4.2	Výskyt fumonisinů v potravinách, krmivech a v potravinových surovinách.....	55
6.4.3	Toxické účinky fumonisinů.....	55
6.5	Zearalenon (F-2 toxin)	56
6.5.1	Základní chemická a fyzikální charakteristika zearalenonu.....	56
6.5.2	Výskyt zearalenonu v potravinách, krmivech a v potravinových surovinách.....	57
6.5.3	Toxické účinky zearalenonu	57
6.6	Trichotheceeny.....	58
6.6.1	Základní chemická a fyzikální charakteristika vybraných trichotheceenů	58
6.6.1.1	T-2 toxin.....	58
6.6.1.2	Deoxynivalenol	59
6.6.2	Výskyt trichotheceenů, T-2 toxinu a deoxynivalenolu v potravinách, krmivech a v potravinových surovinách.....	60
6.6.3	Toxické účinky trichotheceenů, T-2 toxinu a deoxynivalenolu.....	60
7	Analytické stanovení mykotoxinů.....	62
7.1	Preanalytická fáze – příprava vzorku pro analýzu	62

7.1.1	Odběr vzorku.....	62
7.1.2	Homogenizace vzorku.....	62
7.1.3	Extrakce mykotoxinů.....	62
7.1.4	Přečištění extraktu.....	63
7.1.4.1	Technika extrakce z kapaliny do kapaliny (LLE, liquid-liquid extraction)	63
7.1.4.2	Technika extrakce na pevnou fázi (SPE, solid phase extraction).....	63
7.1.4.3	Imunoafinitní chromatografie (IAC, immunoaffinity chromatography).....	64
7.1.4.4	Gelová permeační chromatografie (GPC, gel-permeation chromatography)..	65
7.2	Vlastní analytická fáze, metody stanovení mykotoxinů.....	65
7.2.1	Chromatografické metody.....	65
7.2.1.1	Chromatografie na tenké vrstvě (TLC, thin layer chromatography).....	65
7.2.1.2	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC, high-performance liquid chromatography).....	66
7.2.1.3	Plynová chromatografie (GC, gas chromatography).....	67
7.2.2	Imunoeseje (ELISA, enzymová imunoanalýza s vázaným enzymem; RIA, radioimunoanalýza; imunoafinitní kolonky)	67
7.2.3	Využití dalších metod pro stanovení mykotoxinů.....	68
8	Postupy omezení výskytu plísní a mykotoxinů.....	69
8.1	Dekontaminace potravinových výrobků a krmiv	69
8.1.1	Fyzikální postupy	69
8.1.2	Mikrobiologické postupy	70
8.1.3	Chemické metody.....	70
	Závěr	71
	Seznam literatury	72
	Zkratky a symboly	87

Zadání – cíl práce

Téma zadání mé bakalářské práce zní: „Mykotoxiny a lidské zdraví“. Mykotoxiny, jak je uvedeno ve vlastním textu práce, reprezentují heterogenní kategorii látek z hlediska jejich chemické struktury, ale i z hlediska jejich negativního působení na lidský organismus.

Cílem předkládané práce je nejen upozornit na výskyt mykotoxinů v potravinách a krmivech, ale také i na jejich škodlivé působení na zdraví nejen člověka, ale i domácích a hospodářských zvířat. Toto téma mne velmi zaujalo, a proto jsem si ho zvolila za předmět své práce.

Mnoho pokusů s mykotoxiny bylo provedeno na laboratorních zvířatech, které často představují vhodné modelové experimentální objekty. Zároveň je však otázkou, jak mnohé výsledky pokusů je možné přímo přenést či aplikovat i na člověka. Bylo jednoznačně prokázáno na laboratorních zvířatech, že mykotoxiny se projevují širokým spektrem patologických účinků, které popisují u konkrétních mykotoxinů v následujícím textu. Mnohé mykotoxiny současně vykazují široké spektrum patogenního působení na laboratorní organismy.

Velkým nebezpečím je, že mykotoxiny se mohou postupně akumulovat v organismu a při jejich určité prahové koncentraci potom dochází ke zjevnému onemocnění. Akumulací některých mykotoxinů se rovněž zabývala i v Hradci Králové výzkumná skupina vedená panem doc. Malířem ze Zdravotního ústavu Hradec Králové. Mykotoxiny nevznikají v potravinách a krmivech nějakými vnitřními či endogenními samovolnými chemickými procesy (tedy *de novo*), ale jsou vždy vytvářeny určitými druhy vláknitých mikromycetů. Proto jsem logicky uvedla i nejdůležitější rody a druhy mikromycetů produkujících tyto toxické sloučeniny. Stručně popisují makroskopický vzhled (makrohabitus) jejich kolonií současně i s mikroskopickou strukturou. U některých druhů ilustruji vnější habitus kolonií příslušnými makrofotografiemi. Velké nebezpečí kontaminace mikromycetami hrozí již při samotném pěstování, sklizni, v průběhu skladování a při vlastním technologickém zpracování zemědělských komodit (obilovin, ovoce), v obchodních sítích a domácnostech spotřebitele.

Mnohé potravinářské suroviny, polotovary i finální výrobky nemusejí být na první pohled vůbec plesnivé, dokonce někdy ani není možné mikroskopicky prokázat přítomnost myceliálních vláken, nebo spor, přesto mohou obsahovat mykotoxiny. Různými technologickými procesy a úpravami mohlo dojít k předešlé destrukci myceliálních struktur mikromycetů. Proto je vždy nutné na všech stupních příslušných technologických procesů zabránit růstu a množení mikromycetů a tím i produkci mykotoxinů.

V tomto kontextu se také zmiňuji o velké odolnosti mykotoxinů k fyzikálním faktorům vnějšího prostředí, zejména k teplotě. Mnohé mykotoxiny nejsou inaktivovány či destruovány ani delším varem nebo i pečením.

1 Úvod

Mykotoxiny zahrnují toxiny, které jsou vytvářeny určitými druhy vláknitých hub (vláknitých mikromycet) za příznivých podmínek jak v přírodním prostředí, tak i při jejich kultivaci v laboratorním měřítku. Mykotoxiny nerepresentují jednotnou skupinu látek z chemického hlediska, naopak náleží do různých kategorií chemických sloučenin.

Ještě na počátku dvacátého století byly mykotoxiny prakticky neznámé. Určitá onemocnění člověka nebo zvířat při konzumaci kontaminovaných potravin nebo krmiv se připisovala nejrůznějším příčinám. Rozhodla jsem se proto shromáždit mnohé poznatky a údaje o mykotoxinech do přehledné a ucelené formy v předkládané bakalářské práci.

Mnohé potravinářské suroviny, polotovary i finální výrobky představují vhodné medium pro růst plísní. Některé druhy plísní vyrůstají na povrchu potravinářských výrobků a lze je rozeznat pouhým okem, jiné jsou již makroskopicky méně patrné. Nelze si však představovat, že všechny plísně produkují nebezpečné mykotoxiny. U některých rodů a druhů nebyla do současné doby prokázána žádná tvorba mykotoxinů. Jiné druhy jsou však považovány za tzv. potenciálně toxigenní. Tyto druhy totiž syntetizují mykotoxiny vždy za konkrétních příznivých podmínek vnějšího prostředí. Pro tvorbu mykotoxinů je rovněž rozhodující složení samotného substrátu (potraviný nebo krmivo), jeho vlhkost, teplota a aktuální kyselost.

Výskyt a toxické či patogenní působení mykotoxinů na zdraví člověka nebo domácích a hospodářských zvířat nelze podceňovat. Mykotoxiny se vyznačují nejrůznějším toxickým působením, mohou nepříznivě ovlivňovat například činnost nervové soustavy, gastrointestinálního systému, ledvin, jater, tvorbu krevních elementů, reprodukčních orgánů nebo snižovat imunitu organismu. Při dlouhodobé expozici mohou mykotoxiny vykazovat karcinogenní nebo mutagenní efekt.

Jedním z cílů mé práce bylo upozornit na nejdůležitější mykotoxiny, přehledně popsat jejich vlastnosti a zdravotní rizika spojená s konzumací potravin, které jsou jimi kontaminovány. V této souvislosti současně také uvádím důležité rody a druhy vláknitých mikromycet, jež jsou právě potenciálními (neboli fakultativními) producenty těchto toxických sloučenin.

2 Mykotoxiny a jejich význam pro člověka

V současné době je známo téměř 400 mykotoxinů produkovaných více než 350 druhy hub a i nadále jsou objevovány a chemicky charakterizovány další mykotoxiny. V lidském okolí se vyskytuje ve významných množstvích přibližně 20 druhů mykotoxinů [1; 10; 72].

2.1 Negativní dopad mykotoxinů na pracovní a životní prostředí člověka

2.1.1 Mykotoxiny jako původci onemocnění člověka a zvířat

Mykotoxiny, sekundární metabolity mikroskopických hub, představují celosvětový problém od nepaměti. Způsobují celou řadu onemocnění zvaných mykotoxikózy u člověka a hospodářských zvířat prostřednictvím celé stupnice akutních, chronických i pozdních toxických účinků. Z tohoto hlediska je zejména v poslední době aktuální členění mykotoxinů dle jejich toxicity k cílovým orgánům. Mohou totiž specificky působit na některé orgány a orgánové systémy. Například aflatoxiny a ochratoxin A jsou hepatotoxické, trichotheceny postihují primárně trávicí trakt, ochratoxin A působí mimo jiné nefrotoxicky, zearalenon vykazuje estrogení aktivitu a působí tak negativně na reprodukční orgány. Jiné mykotoxiny vystupují jako imunotoxiny, hematotoxiny, dermatotoxiny a genotoxiny. Je prokázáno, že některá onemocnění mají jasnou příčinu v mykotoxinech, u jiných mohou být mykotoxiny jedním z jejich možných činitelů [3; 4; 7; 8; 11; 10; 70].

Na druhou stranu, ne všechny kmeny vláknitých mikromycetů jsou toxinogenní, avšak byla-li zjištěna produkce určitého mykotoxinu u některého kmene určitého druhu mikromycetů, lze všechny kmeny tohoto druhu považovat za potenciálně toxinogenní, tj. schopné produkovat určitý mykotoxin za konkrétních podmínek [4; 7].

U řady mykotoxinů se hodnotí nebezpečí (údaj o toxicitě) a jsou stanovovány národní limity v potravinách a krmivech (vyhláška MZ ČR 53 / 2002 Sb. a 298/1997 Sb.) [4; 7; 8; 73].

2.1.2 Mykotoxiny jako kontaminanty životního prostředí člověka

Mykotoxiny kontaminují a znehodnocují krmiva, osiva a potraviny a snižují tak jejich biologickou hodnotu. Představují tedy stálé riziko pro zdraví člověka v důsledku dietární expozice. Mykotoxiny mohou být také obsaženy ve sporách mikromycetů a představují tímto velké riziko profesionální inhalační expozice při nedodržení zásad správné výrobní praxe například při zpracování cereálních produktů. Potraviny napadené vláknitými mikromycetami podléhají kažení, mění tak i svoje senzorycké a organoleptické vlastnosti [2; 3; 4; 5; 7].

2.1.3 Zneužití mykotoxinů jako biologických zbraní

Určitou hrozbou zůstává využití mykotoxinů jako „levných“ biologických zbraní zejména při sabotážních akcích teroristických skupin. Mohou být zneužity k otravě potravin, vodních zdrojů a v omezených prostorech životního prostředí. Cílem státních kontrolních orgánů, například SÚJCHBO (Státní ústav jaderné, chemické a biologické ochrany), je eliminovat riziko bioterorismu, majoritně prostřednictvím příslušných zákonů a vyhlášek. Například zákon č.281/2002 Sb., vyhláška č. 474 stanovuje opatření například související s nakládáním a prací s vysoce rizikovými biologickými agens. Z mykotoxických biologických agens jsou sledovány zejména aflatoxiny a trichotheceny [4; 9; 11; 74].

2.2 Pozitivní hledisko přítomnosti mikromycet v životním a pracovním prostředí člověka

Mikroskopické houby mají na druhé straně i pozitivní přínos. Některé druhy našly například uplatnění ve farmaceutickém, či potravinářském průmyslu [3].

2.2.1 Mikromycety jako přirozená součást ekosystémů

Mikromycety se v půdním a vodním prostředí významnou mírou podílejí na rozkladu různých organických zbytků rostlin a živočichů. Svoji rozkladnou aktivitou se zařazují hned za bakterie. Z toho vyplývá, že se společně s bakteriemi podstatně účastní koloběhu neboli biogeochemického cyklu významných biogenních prvků v přírodě. Jedná se zvláště o koloběh dusíku, síry a fosforu [3].

2.2.2 Mikromycety jako zdroj antibiotik a jejich využití v moderních biotechnologiích

Významným mezníkem nejen v oboru mykologie byl objev antibiotik. Mikromycety produkují celou řadu antibiotik, například penicilíny, cefalosporiny, apod. V roce 1929 Sir Alexander Fleming objevil penicilin, produkt plísně *Penicillium notatum*. Rozvoj biotechnologií a genetického inženýrství umožňuje využívat některé mikromycety ve farmaceutickém průmyslu k produkci léčiv, kupříkladu antibiotik, léčiv s imunosupresivními účinky, preparátů ovlivňujících endogenní tvorbu cholesterolu v krvi při léčbě vysokého krevního tlaku, léčiv k léčbě nemocí žaludku, dále k produkci látky podobné insulínu jako náhrady insulínu a mnohých dalších významných člověku prospěšných substancí [3; 4; 13; 15; 69].

Chemický průmysl využívá schopnosti mikromycet syntetizovat enzymy, organické kyseliny, například kyselinu citronovou, fumarovou, glukonovou, itakonovou, gibberelovou, vitamíny a hormony [3; 4; 13; 15; 69].

2.2.3 Využití mikromycet v potravinářství a při výrobě nápojů

V neposlední řadě se tzv. "kulturní mikromycety" a jimi produkované enzymy používají k výrobě fermentovaných potravin - chleba, mléčných produktů a alkoholických nápojů. Zejména v Asii se s oblibou potraviny na sójovém základu, například tempeh, miso, sufu fermentují pomocí vláknitých mikromycet *Aspergillus oryzae* a *Rhizopus oligosporus*. Těmito pochody se stávají lépe stravitelné a v mnoha ohledech se zvyšuje jejich biologická hodnota [3; 6; 4; 69; 13].

Penicillium roqueforti a *Penicillium camemberti* a *P. nalgiovense* se používají při výrobě plísňových sýrů rokfórského a camembertského typu [3; 6; 4; 69; 15].

Kulturní mikromycety našly také uplatnění v masném průmyslu při výrobě salámů s ušlechtilou plísní na povrchu, slaniny a šunky [3; 4].

Perspektivní je i výroba tzv. mykoproteinů, bílkovin s velmi významnou nutriční hodnotou. Používají se k fortifikaci různých potravin, například pečiva a masných výrobků. K jejich produkci se využívají plísně *Fusarium graminearum* a *Paecilomyces variotii*. V současné době se v některých zemích v Evropě vyrábí tzv. "quorn", který se pro vysoký obsah bílkovin a nízký obsah tuku stal dobrou alternativou masa [4].

2.2.4 Využití mikromycet v biologické ochraně rostlin

Některé mykotoxiny našly v současné době využití jako tzv. přírodní herbicidy - fytotoxiny, například k hubení plevelů v zemědělství. Některé mikroskopické houby, zejména *Pythium oligandrum* a *Trichoderma harzianum* jsou v přípravcích na bázi spor využívány k biologické ochraně rostlin před patogenními houbami a škůdci jako mykopesticidy. Z jejich spor vyklíčí vlákno, rozroste se v mycelium, které napadá různé fytopatogeny rostlin. Naopak jiné mikromycety a jejich metabolické produkty jsou využívány jako růstové hormony [4; 12; 71; 73].

Také je možné využít tzv. entomopatogenní mikroskopické houby k likvidaci živočišných škůdců, zvláště různého škodlivého hmyzu [4].

2.2.5 Využití mikromycet v problematice čištění odpadních vod

Jelikož mnohé vláknité houby a saprofytické plísně jsou schopné štěpit organické látky, které jsou součástí odpadních vod, mohou být využívány k jejich čištění a přispívat tak k řešení této problematiky [3].

3 Zdroje mykotoxinů

Významným zdrojem nejznámějších mykotoxinů jsou zejména toxinogenní kmeny mikromycetů rodu *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Claviceps* a *Alternaria* avšak i ve všech ostatních taxonomických skupinách vláknitých hub jsou mykotoxiny produkovány. V současné době je známo několik desítek toxinogenních mikromycetů, které mohou ovlivňovat zdraví člověka [9; 73].

3.1 Rod *Aspergillus*

Rod *Aspergillus* je z fylogenetického hlediska pokládán za velmi starou fylogenetickou skupinu. Poprvé byl popsán v roce 1729 italským botanikem, P. A. Micheli (1679 -1737) a jeho název byl odvozen z latinského slova „*aspergō*“, což česky znamená „kropím“. Pro zástupce rodu *Aspergillus* se někdy využívá českého názvu „kropidlák“.

Rod *Aspergillus* zahrnuje velký počet druhů, které se často podstatně liší vlastnostmi a lze je charakterizovat a odlišit na základě řady faktorů, jako například: morfologie (makromorfologie, mikromorfologie) kolonií, rychlosti růstu, odolnosti vůči nepříznivým faktorům vnějšího prostředí, rozdílných biochemických vlastností, či právě na základě rozdílné produkce mykotoxinů [26].

Zástupci rodu *Aspergillus* společně s jinými vláknitými mikroskopickými houbami rodu *Penicillium* tvoří nejpočetnější skupinu mikroskopických vláknitých hub vyskytující se v biosféře a pedosféře [26].

Druhy rodu *Aspergillus* produkují velmi významné mykotoxiny ohrožující zdraví nejen člověka, ale i domácích zvířat. Některé druhy se rozmnožují jenom nepohlavním způsobem, jiné druhy mohou vykazovat jak nepohlavní (asexuální) i pohlavní reprodukci. V současné době se pohlavní stadia plísní obecně označují názvem „teleomorfa“ [1; 25].

Taxonomie tohoto složitého rodu mikromycet se postupně vyvíjela. Již ve 20. letech minulého století se výzkumem aspergilů a jejich klasifikací zabýval americký mykolog K. B. Raper. Ten se potom spoluprací s dalším významným mykologem C. Thomem podílel na sepsání unikátní monografie o rodu *Aspergillus*, která byla vydána v roce 1945. V této monografii uvedení autoři shrnuli všechny dostupné poznatky a navrhli klasifikaci rodu *Aspergillus*, která se vlastně používala až do konce minulého století. Tato monografie byla potom ještě přepracována K. B. Raperem a D. Fennellovou a tato pozdější monografie se objevila v roce 1965. K. B. Raper a D. Fennellová vypracovali klíč k určování druhů aspergilů a rozdělili jejich systém do určitých skupin, kde každá skupina zahrnuje morfologicky i fyziologicky podobné druhy [27].

Potom australský mykolog J. I. Pitt vypracoval ucelenější systém klasifikace druhů rodu *Aspergillus*. Rod *Aspergillus* se v tomto systému rozděluje na podrody a každý podrod může zahrnovat jednu nebo až několik sekcí. Lze uvést tyto významné podrody: *Aspergillus*, *Fumigati*, *Ornati*, *Clavati*, *Nidulantes*, *Circumdati* a *Stilbothamnium* [18].

Obecná makromorfologie a mikromorfologie rodu *Aspergillus*

Makromorfologie zahrnuje vzhled kolonií, který můžeme pozorovat pouhým okem, tedy makroskopicky. Pokud se týká makromorfologie, tak posuzujeme zvláště zbarvení kolonií, jejich strukturu a produkci pigmentů, z nichž některé mohou difundovat do okolí, do kultivační půdy [26; 30].

Při mikromorfologickém pozorování mikromycet rodu *Aspergillus* například pomocí mikroskopie nativního preparátu se sleduje a studuje především reprodukční orgán zvaný měchýřek, neboli „*vesiculus*“, který vyrůstá na konidioforu. Měchýřek bývá oválný až kulovitý a nese na svém povrchu konidionosné buňky zvané fialidy, které jsou lahvicovitého tvaru. Tyto fialidy se mohou na měchýřku vyskytovat buď v jedné řadě (monoseriálně) – jde o primární fialidy nebo ve dvou řadách nad sebou (biseriálně) – jde o sekundární fialidy. Na konci fialid buď primárních, nebo sekundárních se tvoří spory zvané konidie (nebo také konidiospory). Některé druhy rodu *Aspergillus* se také rozmnožují pohlavně pomocí askospor v útvarcích zvaných plodničky. Ty jsou ještě rozdělené na vřesky, latinsky „*asci*“. Tyto askospory jsou podstatně odolnější k podmínkám zevního prostředí zvláště k teplotním vlivům [86].

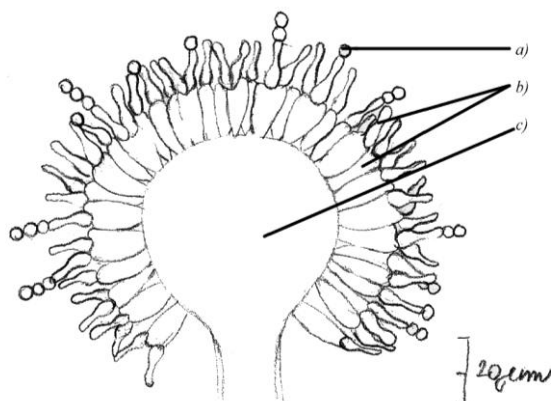
3.1.1 *Aspergillus candidus*

Aspergillus candidus (*A. candidus*) se vyznačuje růstem na Czapek-Doxově agaru (CDA, Czapek-Dox agar) v podobě bílých kolonií, které po delší době mohou nabýt krémově žluté zbarvení. Odtud také pochází označení „*candidus*“, což znamená bílý. Spodní strana kolonie není zbarvena [19].

Mikroskopicky se *A. candidus* vyznačuje těmito mikromorfologickými znaky: typicky kulovitými měchýřky se dvěma řadami fialidů na svém povrchu a nejčastěji kulovitými, bezbarvými a tenkostěnnými konidii (viz. Obr. 1) [30].

Tento druh se významně vyskytuje například na obilovinách, na skladované mouce, na vlašských ořeších. Produkuje kyselinu kojovou [5].

Obr. 1: Schematický náčrt mikromorfologických znaků plísně *Aspergillus candidus*



Zdroj: převzato z Fassatiová, O., 1979, upraveno: I. Roudná

Legenda: a) konidie, b) filidy, c) měchýřek

3.1.2 *Aspergillus niger*

Název tohoto druhu je etymologicky odvozen od latinského slova „*niger*“, což v českém jazyce znamená černý. *Aspergillus niger* (*A. niger*) na CDA i na Czapekově agaru s kvasničným extraktem (CYA, Czapek yeast extract agar) vyrůstá poměrně rychle a zpočátku vytváří vatovité a bílé mycelium, které potom postupně černá (viz. Obr. 2). Spodní strana kolonií je většinou světle žlutá [19; 26].

Pod mikroskopem pozorujeme téměř kulovité měchýřky se dvěma řadami filid. Na koncových (sekundárních) filidách se vytvářejí kulovité konidie, zpočátku s hladkými stěnami, později typicky ostnitě (bradavčité) [28].

Obr. 2: Kolonie plísně rodu *Aspergillus niger* na CYA, kultivace po dobu 5 dní, při 25 °C



Zdroj: TVRZOVÁ, Ludmila, J. CHUMCHALOVÁ, M. NĚMEC, Z. PÁČOVÁ, D. SAVICKÁ, A. KUBÁTOVÁ a P. PATÁKOVÁ. *Miniatlas mikroorganismů* [online]. Brno: Masarykova univerzita, 2006. Elportál. [cit. 2014-07-13]. ISSN 1802-128X. Dostupné z: <http://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/index.html>.

Tento druh je významný z biotechnologického hlediska, neboť vytváří některé organické kyseliny jako například kyselinu citrónovou, fumarovou, glukonovou nebo oxalovou. Také se používá i k produkci enzymů. V mikrobiologických laboratořích se pomocí tohoto druhu testuje odolnost mikromycet vůči různým dezinfekčním přípravkům [31].

Z klinického hlediska může způsobovat některé mykózy, například jsou popsány mykózy vnějšího zvukovodu - otomykózy. U osob s určitou predispozicí mohou spory *A. niger* po delší expozici způsobovat alergické záněty průdušek. V literatuře se také uvádí i pravděpodobná produkce ochratoxinu A [28].

3.1.3 *Aspergillus ochraceus*

Aspergillus ochraceus (*A. ochraceus*) na CDA vytváří vždy nízké a charakteristicky zrnité kolonie se soustřednou vrstevnatostí, které jsou zbarvené okrově žlutě, oranžově nebo oranžově červeně. Jejich spodní strana je rovněž oranžová, někdy přechází až do červeného tónu [3].

A. ochraceus vytváří kulovité až elipsoidní měchýřky a po celém jeho povrchu vyrůstají ve dvou řadách fialidy. Na sekundárních fialidách vznikají kulovité až elipsoidní konidie s drsným (ostnitým) povrchem [4].

Tento druh aspergilů se vyznačuje fermentačními schopnostmi a vyskytuje se na obilovinách, například na skladovaném obilí, rýži, oříšcích lískových, vlašských, burských, na kokosovém ořechu a různém koření. Je u něho prokázána tvorba ochratoxinu A, ochratoxinu B a C a kyseliny penicilové [5].

3.1.4 *Aspergillus fumigatus*

Druhový název *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*) je odvozen od latinského slova „*fumus*“, což znamená kouř. Kolonie na CDA, CYA jsou nízké, sametové a zelenomodře nebo šedozeleně jakoby kouřově zbarvené (viz. Obr. 3). Jejich spodní strana je buď nezbarvená, nebo u jiných kmenů žlutě až temně červeně zbarvená [19; 30].

Obr. 3: Kolonie plísně rodu *Aspergillus fumigatus* narostlé na CYA po 5 dnech při 25 °C



Zdroj: TVRZOVÁ, Ludmila, J. CHUMCHALOVÁ, M. NĚMEC, Z. PÁČOVÁ, D. SAVICKÁ, A. KUBÁTOVÁ a P. PATÁKOVÁ. *Miniatlas mikroorganismů* [online]. Brno: Masarykova univerzita, 2006. Elportál. [cit. 2014-07-13]. ISSN 1802-128X. Dostupné z: <http://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/mikr.htm>.

Konidiofory *A. fumigatus* na konci vytvářejí široce palicovitý měchýřek, který je jenom na vrcholu porostlý fialidami v jedné řadě směřujícími typicky vzhůru. Konidie jsou vždy kulovité a ostnitě [28].

Tento druh se vyskytuje na mnoha rostlinných produktech včetně skladovaného obilí nebo mouky. Je termofilní a schopný ještě růstu při 50 °C [5].

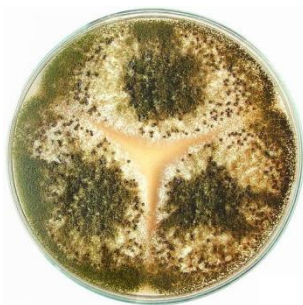
Vyznačuje se patogenitou pro člověka a některá zvířata. Jeho spory pronikají dýchacími cestami až do plic, kde mohou vznikat ložiska zvaná mycetomy. Také vyvolává mykotoxikózy, neboť produkuje mykotoxiny fumitremorgeny, verukulogen, či gliotoxin [32].

3.1.5 *Aspergillus flavus*

Název *Aspergillus flavus* (*A. flavus*) je odvozen z latinského označení „*flavus*“, což znamená žlutý. Kolonie na CDA, CYA vyrůstají poměrně rychle a jsou vlnaté a světle žlutě zbarvené. V pozdějším stádiu bývají potom zbarveny typicky slámově nebo citronově žlutě, ale i žlutozeleně (viz. Obr. 4). Spodní strana je vždy žlutá až hnědožlutá [6].

Při mikroskopickém pozorování lze pozorovat nepravidelně kulovitý měchýřek, porostlý dvěma řadami fialid. Někdy se však může tvořit pouze jedna řada fialid, což může vést k obtížnostem při určování. Na fialidách se generují kulovité až hruškovité konidie se zoubky nebo ostny na svém povrchu [1; 20].

Obr. 4: Kolonie plísně Aspergillus flavus na CYA po 14 denní kultivaci při 25 °C s nápadně černými sklerociem



Zdroj: TVRZOVÁ, Ludmila, J. CHUMCHALOVÁ, M. NĚMEC, Z. PÁČOVÁ, D. SAVICKÁ, A. KUBÁTOVÁ a P. PATÁKOVÁ. *Miniatlas mikroorganismů* [online]. Brno: Masarykova univerzita, 2006. Elportál. [cit. 2014-07-13]. ISSN 1802-128X. Dostupné z: <http://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/asp-fu.htm>.

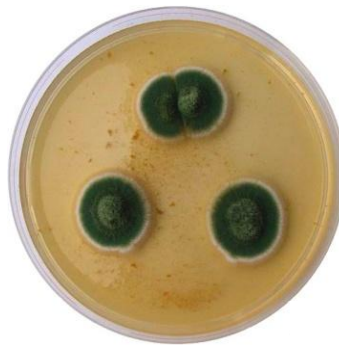
A. flavus patří v rámci rodu *Aspergillus* k nejrozšířenějším druhům. Vyskytuje se na široké řadě nejrůznějších rostlinných produktů, například rýže, obiloviny a výrobky z obilovin, otruby, sojové boby, lískové a vlašské ořechy [2].

A. flavus vytváří mykotoxiny zvané aflatoxiny - aflatoxin B₁, B₂, které byly prozkoumány nejdříve. Významná je také tvorba kyseliny cyklopiazonové. Aflatoxiny mohou způsobovat mykotoxikózy drůbeže, prasat, skotu, koní, ale i člověka [8].

3.1.6 *Aspergillus versicolor*

Na CDA, ale i na dalších mykologických půdách roste *Aspergillus versicolor* (*A. versicolor*) vždy velmi pomalu a vytváří typicky kompaktní kolonie sametového nebo vločkovitého vzhledu (viz. Obr. 5). Nejdříve jsou kolonie bílé a postupem času se zbarvují žlutě až okrově. Spodní strana je bezbarvá nebo žlutá, oranžová či růžová [30].

Obr. 5: Kolonie plísně *Aspergillus versicolor* na agaru se sladovým extraktem (MEA), kultivace po dobu 12 dnů při 25 °C



Zdroj: TVRZOVÁ, Ludmila, J. CHUMCHALOVÁ, M. NĚMEC, Z. PÁČOVÁ, D. SAVICKÁ, A. KUBÁTOVÁ a P. PATÁKOVÁ. *Miniatlas mikroorganismů* [online]. Brno: Masarykova univerzita, 2006. Elportál. [cit. 2014-07-13]. ISSN 1802-128X. Dostupné z http://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/images/plisne/kolonie/Aspergillus_versicolor_CCF_2491_MEA_12-25.jpg

Při mikroskopii lze pozorovat polokulovité měchýřky, které jsou se dvěma řadami fialid. Konidie jsou kulovité a jemně zdrsňelé [30].

Výskyt *A. versicolor* je především na obilovinách, sojových bobech, arašidech, lískových a vlašských oříšcích [2].

Z biochemického hlediska se *A. versicolor* vyznačuje biosyntézou proteolytických enzymů a produkuje mykotoxin sterigmatocystin, který je karcinogenní a může způsobovat hepatotoxikózy [8].

3.1.7 *Aspergillus clavatus*

Kolonie *Aspergillus clavatus* (*A. clavatus*) na CDA jsou bílé a vlnaté. V místech tvorby spor se objevují i modrozelená místa. Spodní strana je nezbarvená. Identifikace tohoto druhu je poměrně snadná neboť se vytvářejí protáhlé kyjovité měchýřky s jednou řadou hustě narostlých fialid. Konidie jsou vždy elipsoidní a hladké [30].

A. clavatus se vyskytuje na různých rostlinných produktech a orgánech v počátečním stadiu jejich rozkladu. U *A. clavatus* je spolehlivě prokázána tvorba mykotoxinu patulinu (clavacin), rovněž cytochalasinu E a tryptoquivalonu [3; 4].

3.1.8 *Aspergillus repens*

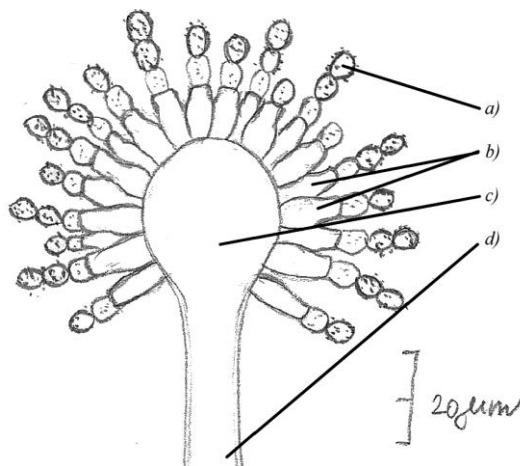
Z potravinářského hlediska je velmi důležitý druh *Aspergillus repens* (*A. repens*, *Eurotium repens*, *A. glaucus*, *A. glaucus* var. *repens*) [3].

Může se vyskytovat v konzervárenství, kde odolává pasterizačním teplotám při výrobě moštů, marmelád nebo sirupů. Tato tepelná rezistence je právě způsobena askosporami, které jsou výsledkem pohlavního rozmnožování. Tyto reprodukční útvary jsou mnohem rezistentnější, než spory či konidie [6; 25].

Kolonie na CDA jsou většinou husté, ploché a žlutozeleně zbarvené. Spodní strana je žlutozelené barvy.

Konidiofory jsou hladké a konidie se vyznačují elipsoidním nebo kulovitým tvarem a na povrchu jsou vždy ostnité (viz. Obr. 6). Askospory mají hladké stěny a typický ekvatoriální prstenec [18].

Obr. 6: Schematický nákres mikromorfologických znaků plísně *Aspergillus repens*



Zdroj: převzato z Fassatiová O., 1979, upraveno: I. Roudná

Legenda: a) konidie, b) fialidy, c) měchýřek, d) konidiofor

Rozšíření tohoto druhu je celosvětové, tedy jak v mírném pásmu, tak i v oblastech subtropických a tropických. Může se vyskytovat na celé řadě potravin a krmiv, jako je skladovaná pšenice, kukuřice a další obiloviny, na ovoci, ořeších i například na masu, masných výrobcích a sýrech v průběhu jejich skladování [1; 4].

Do současné doby není u *A. repens* prokázána produkce mykotoxinů, avšak tento druh se vyznačuje produkcí řady enzymů, zvláště lipolytických, amylolytických a sacharolytických, které mohou rozkládat potraviny a ovlivňovat jejich senzoričké vlastnosti [4; 8; 15].

3.2 Rod *Fusarium*

Rod *Fusarium* prvně popsal německý botanik H. K. Link v roce 1809. Dal mu název podle latinského názvu „*fusus*“, což znamená vřeten. Někdy se česky zástupci rodu *Fusarium* označují jako „srpovnička“, podle srpovitého, neboli rohlíčkovitého tvaru makrokonidií [29].

Druhy rodu *Fusarium* se poměrně hojně vyskytují v potravinách a krmivech. Z tohoto aspektu mají velký hygienický a zdravotní význam jak pro člověka, tak i pro domácí a hospodářská zvířata. V přírodním prostředí také žijí jako saprofyty v rhizosféře rostlin (bezprostřední okolí kořenek rostlin). Nicméně mají ohromný význam z hlediska fytopatologického, to znamená, že způsobují různé hniloby a choroby rostlin a jejich plodů nebo produktů [2; 5].

Mnoho druhů z tohoto rodu jsou významnými producenty nebezpečných mykotoxinů. Konkrétně to mohou být fumonisiny a trichotheceny B (deoxynivalenol, nivalenol a zearalenon). Z hlediska vztahu ke kyslíku mohou některé druhy fuzarií růst i za anaerobních podmínek (bez přítomnosti kyslíku) [36].

Obecná makromorfologie a mikromorfologie rodu *Fusarium*

Některá fuzaria vytvářejí na sladidovém agaru šedobílé a vločkovité kolonie, jiné zase kolonie práškovité. Kolonie fuzarií jsou v mnoha případech zbarvené oranžově až červeně nebo hnědooranžově. Spodní strana kolonií bývá zbarvena rovněž růžově až červenorůžově [35].

Fuzaria mohou vytvářet tři druhy spor: mikrokonidie, makrokonidie a chlamydostry, které jsou odolnější než oba druhy konidií. Konidie vznikají na hyfovém vláknu, zvaném konidiofor. Na konidioforech se tvoří fialidy, které potom dávají vznik mikrokonidiím a makrokonidiím. Mikrokonidie fuzarií jsou jednobuněčné, elipsoidní nebo oválné. Makrokonidie mohou být dvoubuněčné až vícebuněčné a vykazují vždy rohlíčkovitý tvar. Pro bližší určení druhu fuzarií se posuzují mikroskopické znaky mikrokonidií, makrokonidií a přítomnost či nepřítomnost chlamydostry v připraveném mikroskopickém preparátu. V poslední době se také

může k identifikaci fuzarií použít metod molekulárně biologických, chemických a biochemických [3; 4; 34].

Chlamydospory vznikají buď na konci hyfových vláken (terminálně) nebo mezi buňkami vláken (interkalárně). Konidiofory mohou být buď volně, nebo jednotlivě v koloniích, také však se u některých druhů shlukují do polštářovitých útvarů zvaných sporodochia. Také se mohou vytvářet souvislé porosty zvané pionoty. Někdy můžeme u fuzarií pozorovat tvorbu tuhých kulovitých útvarů zvaných sklerocia a také i tvorbu plodniček – peritecií, které náležejí k pohlavnímu stadiu rozmnožování [34].

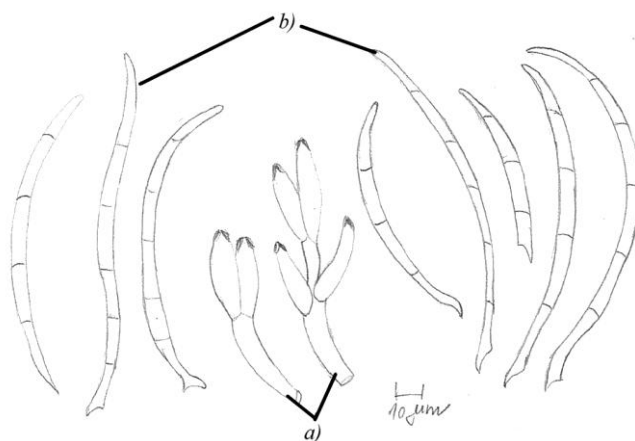
Z taxonomického hlediska se fuzaria často rozdělují na základě konidiálního stadia do 12 skupin zvaných sekce, které zahrnují celkem asi 40 druhů [30].

3.2.1 *Fusarium avenaceum*

Fusarium avenaceum (*F. avenaceum*) tvoří sporodochia, která jsou oranžově zbarvená. Spodní strana porostu je červeně zbarvená od tvorby pigmentu [3].

Makrokonidie jsou protáhlé, srpovité se zahnutými konci a na spodní (bazální) buňce se vytváří tzv. nožka (pedicel), (viz. Obr. 7). Mikrokonidie ani chlamydospory se nevyskytují [3].

Obr. 7: Schematický náčrt mikromorfologických znaků plísně *Fusarium avenaceum*



Zdroj: převzato z Fassatiová, O., 1979, upraveno: I. Roudná

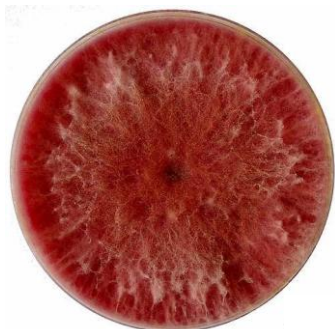
Legenda: a) konidiofory, b) makrokonidie

F. avenaceum může napadat obiloviny, ale i některé zahradní dřeviny. Vytváří toxické produkty, zvláště moniliformin, fusarin C, T-2 toxin a beauvericin [33].

3.2.2 *Fusarium culmorum*

Fusarium culmorum (*F. culmorum*) roste na sladínovém agaru poměrně rychle, typická je tvorba sporodochií, které jsou zpočátku bleděoranžové, ale postupem času se stávají červené od pigmentu (viz. Obr. 8) [2].

Obr. 8: Kolonie *Fusarium culmorum* na bramboroglukozovém agaru (PGA, potato glucose agar), kultivace po dobu 14 dnů při 25°C



Zdroj: TVRZOVÁ, Ludmila, J. CHUMCHALOVÁ, M. NĚMEC, Z. PÁČOVÁ, D. SAVICKÁ, A. KUBÁTOVÁ a P. PATÁKOVÁ. *Miniatlas mikroorganismů* [online]. Brno: Masarykova univerzita, 2006. Elportál. [cit. 2014-07-13]. ISSN 1802-128X. Dostupné z: <http://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/mikr.htm>

Při mikroskopickém pozorování lze sledovat makrokonidie se 3 až 4 přehrádkami, většinou uniformního tvaru a velikosti. Na bazální buňce není nožka zřetelně vyznačena. Chlamydospory jsou kulovitěho tvaru a většinou interkalární (vmezežené). Mikrokonidie vždy chybějí a také nebylo prokázáno sexuální (pohlavní) stadium [1].

F. culmorum produkuje látky steroidní povahy a velkou řadu mykotoxinů, zvláště moniliformin, deoxynivalenol a další trichotheceny, rovněž fusarin C a zearalenon. Také se uvádí tvorba sambucinolu, butenolidu a culmorinu. Biosyntéza mykotoxinů je velmi závislá na teplotě okolního prostředí. Vyskytuje se v obilovinách [8].

3.2.3 *Fusarium graminearum*

Podle sexuálního stadia se *Fusarium graminearum* (*F. graminearum*) také označuje také jako *Gibberella zeae*.

Kolonie na bramboroglukozovém agaru rostou rychle a jejich zbarvení je žluté až slabě oranžové.

Makrokonidie jsou protáhlé s 5 až 6 přehrádkami a na bazální buňce je celkem dobře vyvinutá nožka. Mikrokonidie se nevytvářejí a chlamydospory jsou interkalární a většinou

umístěné v makrokonidiích. Askosporová forma (sexuální stadium) se vyskytuje na stéblech obilovin a jiných trav a způsobuje hnilobné pochody [35; 37].

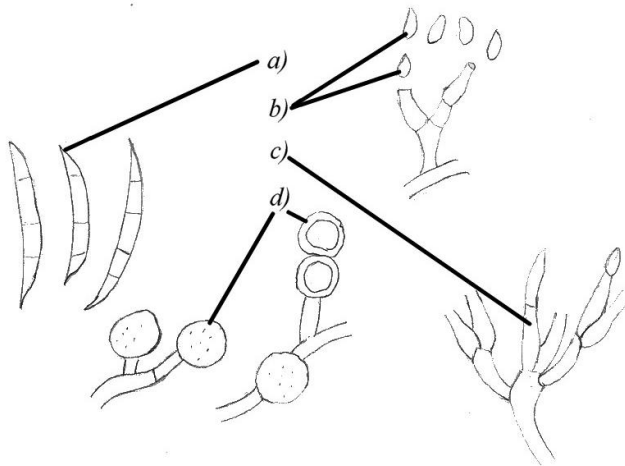
F. graminearum může vytvářet tři důležité mykotoxiny: zearalenon, nivalenol a deoxynivalenol, rovněž i aurofusarin, culmorin, fusarin C a fusarochromanon i T-2 toxin. Nebyla prokázána produkce moniliforminu [4; 8; 37].

3.2.4 *Fusarium oxysporum*

Sexuální stádium u tohoto druhu není známo. Jeho rozšíření je kosmopolitní. Často působí jako rostlinný patogen a všeobecně se vyskytuje jako saprofyt v půdě. Na sladínovém agaru vytváří nízké pavučinovité mycelium, které je zbarvené růžově nebo červeně s fialovým tónem. [30].

Makrokonidie jsou krátké až střední délky, poměrně slabě zahnuté. Bazální buňka vytváří zřetelnou nožku. Obvykle jsou makrokonidie rozděleny 3 přehrádkami. Mikrokonidie se nacházejí v hojném počtu, jsou oválné, elipsoidní až ledvinovitého tvaru a bez přehrádky (viz. Obr. 9). Chlamydospory vznikají terminálně i interkalárně s povrchem hladkým nebo drsným [30].

Obr. 9: Schematický nákres mikromorfologických znaků plísně *Fusarium oxysporum*



Zdroj: převzato z Fassatiová, O., 1979, upraveno: I. Roudná

Legenda: a) makrokonidie, b) mikrokonidie, c) chlamydospory, d) konidiofor s konidiemi

Mnohé kmeny vystupují jako rostlinné patogeny a způsobují částečné nebo úplné ucpání cévních svazků rostlin. To znamená, že napadají parazity rostlin a způsobují jejich uhynutí [30].

Z fyziologického a biochemického hlediska se tento druh vyznačuje tvorbou celé řady enzymů, které rozkládají buněčné stěny rostlin, například celulózy, glukonázy, pektinázy,

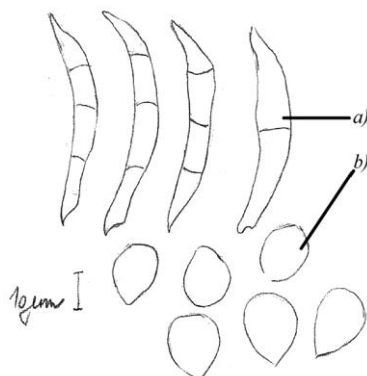
xylanázy. Rovněž byly popsány humánní infekce, které způsobily například zánět očí anebo různé druhy dermatitíd. U tohoto druhu byla prokázána tvorba celé řady toxických látek, jako je například: beauvericin, bikaverin, fusarová kyselina, fusarin C, isoverrucarol, moniliformin, naphthochinové pigmenty, sambutoxin a wortmannin [36; 8].

3.2.5 *Fusarium poae*

Tento druh fuzarií prvně popsal C. E. Lewis v roce 1913. Sexuální stadium není známo. Vzdušné mycelium na slatinovém agaru roste velmi rychle, je bělavě červené až černé. Spodní strana je červená nebo okrově žlutá [1; 3].

Makrokonidie jsou relativně krátké se slabě vytvořenou nožkou, se 3 až 5 přehrádkami. U některých kultur se makrokonidie nemusejí vytvářet. Mikrokonidie jsou hruškovité až citronovité a vyskytují se hojně (viz. Obr 10). Chlamydospory lze pozorovat jen velmi zřídka [34].

Obr. 10: Schematický náčrt mikromorfologických znaků plísně *Fusarium poae*



Zdroj: převzato z Fassatiová, O., 1979, upraveno: I. Roudná

Legenda: a) makrokonidie, b) mikrokonidie

Fusarium poae je možné izolovat z různých obilovin a také ze semen domestikovaných druhů rostlin [2].

Některé izoláty prokazují značný obsah lipolytických enzymů. Tento druh může vytvářet následující toxické produkty: beauvericin, fusarin C, culmorin a trichotheceny: diacetoxyscirpenol, monoacetoxyscirpenol, nivalenol a T2- toxin. Tento druh byl označen za původce alimentární toxické aleukie [4].

3.2.6 *Fusarium solani*

Fusarium solani (*F. solani*) vytváří na bramboroglukózovém agaru šedobílé vložkovité mycelium, jehož spodní strana může být modrá [3].

Makrokonidie jsou relativně široké a přímé. Bazální buňka vytváří buď zřetelnou nožku, nebo pouze její náznak. V makrokonidiích můžeme pozorovat 3 až 5 přehrádek. Mikrokonidie jsou oválné nebo vejčité bez přehrádky nebo s 1, výjimečně 2 přehrádkami. Chlamydospory se vyskytují interkalárně nebo terminálně buď jednotlivě, nebo ve dvojicích, výjimečně v krátkých řetězcích. Chlamydospory mají kulovitý až oválný tvar [34].

F. solani působí jako patogen mnoha vřivkovitých rostlin a některých tropických rostlin. Vyskytuje se v půdě a napadá bramborové hlízy. U člověka bylo izolováno z očí, nehtů, kůže, nosní dutiny a infikovaných ran, příležitostně byl izolován od pacientů s HIV. Některé kmeny *F. solani* vytvářejí imunosupresivní sloučeninu, cyklosporin A, který může zvyšovat patogenní potenciál této plísně u zvířat. Tento druh syntetizuje četné pigmenty naftochinonového typu, dále vytváří fusalanipyron, fusarovou kyselinu a moniliformin, furanoterpenoidy, ipomeanoly a další zatím neznámé mykotoxiny. Tvorba trichothecenových mykotoxinů a zearalenonu nebyla prokázána [4; 36].

3.2.7 *Fusarium sporotrichioides*

Mycelium *Fusarium sporotrichioides* (*F. sporotrichioides*) na bramboroglukózovém agaru je zpočátku bílé až světle červené, ale postupem času tmavne. *F. sporotrichioides* vytváří červený pigment, který může difundovat i do agarového média.

Makrokonidie jsou často téměř poloměsíčitě, bazální buňka nevytváří nožku. Obvykle mají makrokonidia 3 až 5 přehrádek, ale často se vyskytují pouze 3 přehrádky. Hruškovité mikrokonidie nemají žádnou přehrádku, ale elipsoidní až vřetenovité mikrokonidie mohou mít 1 přehrádku. Chlamydospory jsou přítomny poměrně hojně, a buď se v hyfových vláknech vyskytují jednotlivě, nebo v krátkých řetězcích. Vyznačují se kulovitým tvarem s hladkými stěnami [30].

F. sporotrichioides může vytvářet mykotoxiny butenolidy, fusarin C, moniliformin, scirpentriol, T-2 toxin, diacetoxyscirpenol, deoxynivalenol a zearalenon [8; 4].

3.3 Rod *Penicillium*

Druhy rodu *Penicillium* jsou velmi rozšířené v přírodním prostředí společně s rodem *Aspergillus*. Vyskytují se v půdním a vodním prostředí, kde mohou intenzivně rozkládat odumřelé zbytky nejen rostlinných, ale i živočišných organismů. Jejich spory jsou přítomné i v ovzduší. Vyznačují se minimálními požadavky na nutriční látky v příslušných substrátech

vnějšího prostředí, které souvisí s jejich velkým celosvětovým rozšířením. Jedná se o mikromycety velmi významné z hlediska biotechnologického (zejména z hlediska produkce antibiotik), ale také z hlediska tvorby mykotoxinů. Jejich význam je i fytopatologický, neboť způsobují hniloby uskladněného ovoce a také choroby rostlin zvané peniciliózy [5; 38].

Na taxonomii plísni rodu *Penicillium* se již od 20 let minulého století významnou měrou podílel americký badatel C. Thom, který potom s K. B. Raporem napsal základní monografii o rodu *Penicillium* („A manual of Penicillia“), která vyšla v roce 1949. V této monografii rozdělují autoři rod *Penicillium* podle morfologického uspořádání štětečku (počet přeslenů metul a jejich symetrie či asymetrie) na 4 sekce: Monoverticillata, Biverticillata-Asymmetrica, Biverticillata-Symmetrica a Polyverticillata.

Sekce Monoverticillata, Biverticillata-Symmetrica a Polyverticillata se dále již nedělí, naopak sekce Biverticillata-Asymmetrica se ještě diferencuje na jednotlivé subsekce podle makromorfologie kolonií [18].

Sekce Monoverticillata zahrnuje druhy, jejichž štěteček (O. Fassatiová užívá ještě jemnější termín, „štětiček“) je tvořený jedním přeslenem (svazkem) fialid. Sekce Biverticillata-Asymmetrica obsahuje druhy se štětečkem asymetrickým, u sekce Biverticillata-Symmetrica je štěteček uspořádaný symetricky vzhledem k hlavní ose konidioforu. Sekce Polyverticillata má štěteček složený ze tří i více přeslenů nad sebou [3].

Australský mykolog J. I. Pitt (1979) rozdělil rod *Penicillium* na 4 podrody zvané: *Aspergilloides*, *Furcatum*, *Penicillium* a *Biverticillium*. Ty přibližně odpovídají konkrétním sekcím podle Thoma a Rapera. V roce 1982 byla publikována nová monografie od C. Ramireze: „Manual and Atlas of the Penicillia“, která však téměř nerespektuje Pittovo rozdělení na podrody.

Název celého rodu je odvozen podle štětečku fialid a metul, latinsky „*penicillus*“. Penicilia se rozmnožují asexuálně pomocí konidií a některé druhy také tvoří kulovité plodničky zvané kleistocarpia, které reprezentují sexuální, neboli askosporové rozmnožování náležející rodu *Eupenicillium* nebo *Talaromyces*. Někdy, a to zřídka, se mohou u některých druhů tvořit sklerocia jako tuhé, kulovité útvary složené z tlustostěnných buněk [39].

Obecná makromorfologie a mikromorfologie rodu *Penicillium*

K taxonomickému určování se penicilia kultivují na CDA a posuzují zvláště tyto znaky: struktura kolonií, jejich velikost, zbarvení, paprscité (radiální) rýhování, soustředná (koncentrická) vrstevnatost, periferní zóna kolonií, exsudát (Fassatiová užívá termín výpotek)

ve formě drobných kapiček na koloniích, zbarvení spodní strany kolonií a případnou difúzi pigmentu do okolní agarové půdy [1].

Mikromorfologické znaky jsou hodnoceny v určitém typu připraveného mikroskopického preparátu, ve kterém se posuzuje zvláště struktura štětečků, rovněž tvar a velikost konidií. K identifikaci penicilií však v současné době slouží rovněž jako doplňkové zejména metody molekulárně biologické, chemické a biochemické jako je tomu u aspergilů a fuzarií [3; 4].

3.3.1 *Penicillium glabrum*

Dříve se označovalo jako *Penicillium frequentans*, vzhledem k jeho velkému výskytu v přírodním prostředí. Kolonie na CDA jeví sametový vzhled a většinou lze u nich také pozorovat paprscité rýhování a soustřednou vrstevnatost. Jsou většinou zbarvené šedozeleň s bílým periferním lemem asi 1 mm širokým. Často se na jejich povrchu tvoří exudát. Spodní strana je žlutooranžová až eventuálně červeně hnědá [6; 39].

Fialidy jsou uspořádány do jednoho přeslenu či svazku (botanicky *verticillium*). Proto tento druh zařadili Thom a Raper ve svém systému do sekce *Monoverticillata*. Na fialidách se generují kulovité a tenkostěnné konidie [39].

Penicillium glabrum se vyskytuje se na skladovaných obilninách a produkuje mykotoxiny aflatoxiny a frequentin [39].

3.3.2 *Penicillium roqueforti*

Kolonie *Penicillium roqueforti* (*P. roqueforti*) na CDA i CYA jsou nízké a vykazují typický sametový vzhled s bílou periferní zónou, širokou 3 - 6 mm. Zbarvení kolonií v době rozvoje sporulace je modrozelené až temně zelené (viz. Obr. 11). Spodní strana kolonií je zelená až modrozelená [38].

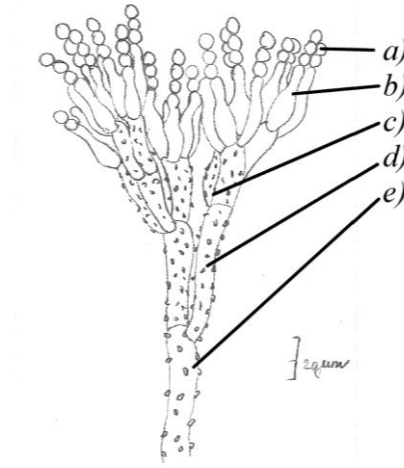
Obr. 11: Kolonie *Penicillium roqueforti* na CYA, kultivace po 7 dnech při 25°C



Zdroj: TVRZOVÁ, Ludmila, J. CHUMCHALOVÁ, M. NĚMEC, Z. PÁČOVÁ, D. SAVICKÁ, A. KUBÁTOVÁ a P. PATÁKOVÁ. *Miniatlas mikroorganismů* [online]. Brno: Masarykova univerzita, 2006. Elportál. [cit. 2014-07-13]. ISSN 1802-128X. Dostupné z: <http://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/mikr.htm>.

Pro tento druh penicilia jsou typické spory se zřetelně zdrsňelou stěnou pokrytou zrnitými výrůstky. Jeden přeslen štětečků tvoří metuly, rovněž se zdrsňelou stěnou. Druhý přeslen je svazkem fialid. Struktura štětečků je nesouměrná (viz. Obr. 12). Proto je *P. roqueforti* zařazeno do sekce Biverticillata-Asymetrica a pro sametový vzhled kolonií do subsekce Velutina, z latinského slova „*velum*“, což znamená sametový [3; 6].

Obr. 12: Schematický náčrt mikromorfologických znaků plísně *Penicillium roqueforti*



Zdroj: převzato z Fassatiová, O., 1979, upraveno: I. Roudná

Legenda: a) konidie, b) fialidy, c) metula, d) větev, e) konidiofor

P. roqueforti se rozmnožuje se pouze nepohlavně, konidii. Pohlavní stadium nebylo zjištěno. Tento druh penicilia roste v širokém rozmezí teplot, udává se teplotní interval mezi 4 °C až 35 °C. Také dobře snáší nízkou koncentraci kyslíku v atmosféře a i značně kyselé prostředí [6; 20].

P. roqueforti je velmi důležitý z biotechnologického hlediska (v sýrašství). Jeho kulturní kmeny se uplatňují při výrobě a zrání sýrů typu Roquefort, neboť produkují lipolytické a proteolytické enzymy. Tento druh také snáší vyšší koncentraci soli. Některé kmeny mohou vytvářet i mykotoxiny, konkrétně roquefortin C, mykofenolovou kyselinu, penicilovou kyselinu a patulin [4; 6].

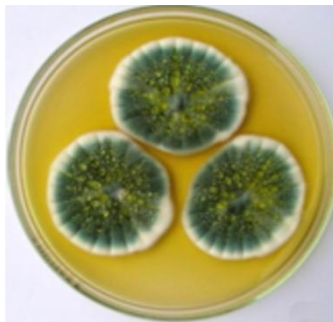
3.3.3 *Penicillium chrysogenum*

Druhové označení této mikromycety vychází z řeckých slov „*chrysos*“, což znamená zlato a „*gennan*“, což znamená tvořit, či plodit. Dříve se ještě rozeznávalo *Penicillium notatum* (*P. notatum*), které bylo přiřazeno k druhu *Penicillium chrysogenum* (*P. chrysogenum*) [1; 3].

Kolonie *P. chrysogenum* jsou na CYA sametového (velutinózního) vzhledu, žlutozelené nebo šedo zelené barvy (viz. Obr. 13). Kolonie vytvářejí ohromné množství spor a vyznačují se

paprscitým rýhováním jak na vnější straně, tak i na spodní straně. Často můžeme na koloniích pozorovat tvorbu žlutého nebo hnědožlutého exudátu. Spodní strana je žlutá až hnědožlutá od žlutého pigmentu, který z kolonií často difunduje do okolní agarové půdy [41].

Obr. 13: Kolonie plísně *Penicillium chrysogenum* na CYA, kultivace po dobu 10 dnu při 25°C



Zdroj: TVRZOVÁ, Ludmila, J. CHUMCHALOVÁ, M. NĚMEC, Z. PÁČOVÁ, D. SAVICKÁ, A. KUBÁTOVÁ a P. PATÁKOVÁ. *Miniatlas mikroorganismů* [online]. Brno: Masarykova univerzita, 2006. Elportál. [cit. 2014-07-13]. ISSN 1802-128X. Dostupné z: <http://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps06/mikroorg/web/mikr.htm>.

Stavba štětečků je asymetrická a biverticilátní. To znamená jeden přeslen metul, na kterých vyrůstá druhý přeslen fialid. Podle Thomova-Raperova systému je *P. chrysogenum* zařazeno do sekce Biverticillata-Asymmetrica, subsekce Velutina. Na fialidách se vytvářejí oválné nebo elipsoidní konidie s hladkou stěnou. U bývalého druhu *P. notatum* byly popisovány kulovité konidie [39].

P. chrysogenum patří mezi toxinogenní mikromycety. Může syntetizovat mykotoxiny roquefortin C a cyklopiazonovou kyselinu, také tvoří kyselinu glukonovou a manitol. Z hlediska potravinářského je velmi častým druhem kontaminujícím různé potraviny a také krmiva. Jsou popsány i mykózy člověka způsobené tímto druhem [1; 4; 8].

3.3.4 *Penicillium aurantiogriseum*

Název tohoto druhu byl odvozen z latinských slov „*aurare*“, což znamená pozlatit a „*griseus*“, což znamená šedivý. Dřívější označení bylo *Penicillium cyclopium*. Tato mikromyceta roste na Czapkově agaru poměrně rychle [1].

Kolonie jsou modrozeleně zbarvené a jejich povrch je téměř vždy zrnitý. Na jejich okrajích je bílý lem široký přibližně 2 mm. Exudát se tvoří pouze zřídka a je buď bezbarvý, nebo růžově oranžový. Spodní strana je nejdříve bezbarvá, postupem času žlutá až hnědožlutá [1].

Konidiofory se vyznačují zdrsňelým povrchem a mohou být buď jednotlivě nebo ve svazcích (subsekcce Fasciculata). Štětcečky jsou tvořeny dvěma větvemi (rami), přeslenem metul a přeslenem fialid s konidiami. Šteteček je nesouměrný, biverticilátní.

Penicillium aurantiogriseum se vyskytuje celosvětově, nachází se zejména v půdě a na rostlinných zbytcích. Může způsobovat druhotné hniloby, například na cibulích okrasných rostlin. Tento druh produkuje mykotoxiny jako například: kyselinu penicilovou, roquefortin C, xanthomegnin, viomellein a verrucosidin [4; 30].

3.3.5 *Penicillium expansum*

Tento druh je pojmenován podle latinského slova „*expandere*“, což znamená rozšiřovat.

Kolonie jsou zrnité a v době tvorby spor zbarvené modrozeleně nebo šedozeleně se spodní stranou většinou bezbarvou. U kolonií se objevuje soustředná vrstevnatost a v okrajové zóně paprscité rýhování. Můžeme také pozorovat tvorbu bezbarvého exudátu [39].

Konidiofory jsou hladké, uspořádání štětčků je asymetrické a jeho jednotlivé části k sobě těsně přiléhají. Z hlediska systému podle Thoma a Rapera náleží tento druh do sekce Biverticillata-Asymmetrica a subsekcce Fasciculata. Konidiofory mohou tvořit svazky [30].

Tento druh se v hojném měřítku vyskytuje v přírodním prostředí, zvláště v půdě a na různých organických substrátech. Často způsobuje tzv. modrou hnilobu jablek. Také napadá i jiné ovoce. Je prokázána tvorba mykotoxinů, patulinu a citrininu [4; 8].

3.3.6 *Penicillium marneffe*

Toto penicilium může vyvolávat systémové mykózy u pacientů s oslabeným imunitním systémem, například při onemocnění AIDS (acquired immunodeficiency syndrome, syndrom získaného selhání imunity). Vyskytuje se převážně v endemických oblastech jihovýchodní Asie (Vietnam, Čína, Thajsko). Je zcela pozoruhodné, že tento jediný, striktně patogenní druh penicilia nevytváří žádné mykotoxiny [17; 19].

4 Toxinogenní mikromycety a jejich význam pro člověka

Na mikromycety nelze paušálně pohlížet pouze negativně, tedy jako na mikrobiální agens schopné produkovat mykotoxiny, rozkládat potraviny a krmiva nebo vyvolávat mykózy. Mikromycety mají neodmyslitelně pozitivní význam například v potravinářském průmyslu (produkce organických kyselin), ve farmaceutickém průmyslu (produkce antibiotik – penicilin, cefalosporiny, cyklosporiny, griseofulvin a řada dalších léčiv), či v zemědělství (využití myko pesticidů) [3; 8; 13; 15].

Obecně, negativní význam mikromycetů spočívá ve vlastní patogenitě mikromycetů, v produkci mykotoxinů a kažení potravin [18; 23].

Mikromycety nejen snášejí, ale i rostou při poměrně velkých rozmezích teploty (dokonce již při chladničkové teplotě až do teploty + 55 °C). Rovněž tolerují i větší rozsah hodnot pH: 1,7 až 10,0 a také i vysokou koncentraci solí. Také vyžadují minimální vodní aktivitu. Uvedené fyziologické vlastnosti plísní a některé jejich další vlastnosti podporují pochody při kažení a znehodnocování potravin. Potravinářské výrobky a polotovary jsou nejčastěji kontaminovány sporami určitých plísní, z kterých vyklíčí mycelium, které začne produkovat zvláště hydrolytické enzymy (amylázy, lipázy a proteázy) způsobující rozklad jednotlivých hlavních komponent kontaminovaného výrobku. U napadených potravin v důsledku tohoto dochází ke změně sensorických vlastností a také k podstatnému snížení jejich nutriční hodnoty. Současně mohou být i do kontaminované potraviny produkovány různé mykotoxiny [2; 18].

4.1 Patogenní působení vláknitých mikromycetů

Patogenní mikromycety vyvolávají v zásadě tři typy onemocnění: mykózy, mykotoxikózy a mykoalergie [4; 23].

4.1.1 Mykózy vyvolané vláknitými mikromycetami

Obecně se mykotické infekce podle anatomické či histologické lokalizace dělí na povrchové (superficiální), kožní (kutánní, dermatomykózy), podkožní (subkutánní) a hluboké (také se označují jako orgánové nebo viscerální). Potom podle rozsahu patologického procesu se ještě rozlišují mykózy na lokalizované (postižena je jenom určitá anatomická oblast) a na systémové (diseminované neboli generalizované) se současným postižením 2 i více orgánů [14; 17; 28].

Mezi nejčastější původce mykóz vyvolaných vláknitými mikromycetami patří především skupina hub zvaných dermatofyty a dimorfní houby. Z dalších vláknitých mikromycet mohou vyvolat mykotická onemocnění zejména někteří zástupci rodu *Aspergillus*, konkrétně *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus* a *A. niger*. Potom jsou ještě rozeznávány tzv. mukormykózy, způsobené zástupci čeledi *Mucorales*, zejména rody *Mucor* nebo *Rhizopus* [4; 23; 28].

4.1.2 Mykotoxikózy

Tuto skupinu chorobných procesů vyvolávají mykotoxiny produkované toxinogenními mikromycetami [1; 4; 23].

Nejvýznamnější a nejvíce známé jsou tyto mykotoxikózy: onemocnění ze žluté rýže, ochratoxikóza a alimentární toxická aleukie [4; 8; 23].

4.1.2.1 Onemocnění ze žluté rýže

Toto onemocnění se také označuje jako kardiální beri-beri. Původně se předpokládalo, že onemocnění je vyvoláno nedostatkem vitamínu B₁. Je známé, že rýže je jednou z nejdůležitějších obilovin pro výživu lidstva, zejména na asijském kontinentu. Odhaduje se, že tvoří hlavní složku potravy pro 60 % obyvatel naší planety. Otrava vzniká po opakované, ale dokonce i po jednorázové konzumaci rýže kontaminované mykotoxiny produkovanými některými druhy rodu *Penicillium* (zvláště *Penicillium citreoviride*, *Penicillium citrinum* nebo *Penicillium islandicum*). Toto onemocnění s vysokou mortalitou se projevuje ochrnutím končetin, hypotenzí a dušností [5; 8; 24].

4.1.2.2 Alimentární toxická aleukie (ATA)

Na počátku minulého století se onemocnění vyskytovalo na východní Sibiři u lidí pojídajících proso a ječmen, které byly kontaminovány plísněmi z rodu *Fusarium*. V letech 1944-1945 se objevila rozsáhlá epidemie ATA způsobená hladomorem. V důsledku válečných událostí nebylo možné sklídit obilí v době zralosti a to zůstalo na poli přes zimu a teprve na jaře příštího roku se sklízelo. Jednalo se hlavně o proso. Ze sklizeného obilí byl upečen chleba nebo připraveny další potraviny. Chuťově byly k nerozeznání od nekontaminovaného obilí. Odhaduje se, že bylo postiženo asi 10 % obyvatelstva, z nichž 60 % zemřelo [4; 8; 60; 77].

Pozoruhodná je patogeneze tohoto onemocnění, jež je dvoufázová a zákeřná. První příznaky se projevovaly zánětem ústní dutiny a jícnu s akutní gastroenteritidou, která vedla ke zvracení, průjmům a bolestem břicha. Tyto příznaky obvykle po několika dnech téměř vymizely a postižení lidé se cítili lépe. Následuje určité období latence trvající dny, ale i několik týdnů. V průběhu této doby dochází však k dramatickému úbytku bílých krvinek (proto aleukie) a krevních destiček. Vyvíjí se těžká leukopenie, postupně dojde k úplnému vymizení leukocytů, následkem nedostatku trombocytů vznikají rozsáhlé hemoragie, nekrotická angína a sepse. Zpočátku se uvažovalo o tom, že toto onemocnění je vlastně epidemií cholery. Někdy postižení lidé zemřeli i náhle udušením způsobeným edémem v dýchacích cestách. Teprve později se retrospektivně prokázalo, že jde o mykotoxikózu způsobenou mykotoxiny produkovanými druhy *Fusarium poae* a *Fusarium sporotrichioides* [4; 60; 76; 77].

4.1.2.3 Ochratoxikóza

Představuje mykotoxikózu, která se vyskytuje jak u lidí, tak i zvířat. Je způsobena konzumací potravin nebo krmiv s obsahem ochratoxinu A. Ochratoxikóza se vyskytuje v mnoha zemích světa. V průběhu 50 let se vyskytla v určitých oblastech Bulharska, Jugoslávie a Rumunska. U člověka jde o těžké onemocnění ledvin. Později bylo toto onemocnění nazváno Balkánskou endemickou nefropatií. Nemoc postihuje obyvatele mezi 30. - 50. rokem života a častěji ženy. Má ryze progresivní charakter s pokračujícími degenerativními procesy na ledvinách [1; 5; 24; 49].

4.1.2.4 Stachybotryotoxikóza

Tato mykotoxikóza se vyskytovala v Rusku již v průběhu předminulého století. Probíhala jako fatální onemocnění koní způsobené mykotoxiny vytvářenými plísněmi rodu *Stachybotrys* a to druhy *Stachybotris atra*, *Stachybotris alternans* a *Stachybotris chartarum*. Lidská stachybotryotoxikóza byla popsána u zemědělců, přicházejících do styku s kontaminovaným senem a slámou. Projevila se stejnými příznaky jako u koní, dermatitidou, rhinitidou, katarální angínou, faryngitidou a konjunktivitidou [1; 4; 8; 24; 77].

4.1.3 Mykoalergie

Mykoalergie jsou alergická onemocnění vyvolaná sporami (přesněji konidii) vláknitých mikromycetů, které pronikají inhalací do dýchacího systému člověka. Jde to nepřiměřené reakce přecitlivělého organismu na přítomnost plísňových alergenů v okolním prostředí. Nejčastěji se jedná o alergeny přítomné přímo na sporách. Spory plísní se mohou podle svoji velikosti dostat až k plicním alveolům. Alergické onemocnění se může postupně vyvinout u jedinců s určitou predispozicí k alergizaci a po opakovaném nebo déle trvajícím vystavení sporám konkrétních druhů plísní. Velmi citlivé jsou děti ve velmi raném (kojeneckém) věku nebo zase naopak starší a nemocné osoby [7; 21; 23].

Alergické reakce většinou vyvolávají tyto rody plísní: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Helminthosporium* a *Penicillium*. J. Lacey v roce 1981 zjistil, že průběh alergického onemocnění je těžší, když spory proniknou až do dolních dýchacích cest. Podle velikosti spor je rozdělil na tři skupiny. Spory s velikostí 10 μm a větší mohou proniknout pouze do horních cest dýchacích a tím dráždí sliznice v nose a hltanu. Spory s velikostí 4 - 10 μm pronikají již hlouběji do respiračního systému, dostávají se do průdušnice a bronchů, kde mohou být podnětem k astmatickým projevům. Třetí kategorie potom zahrnuje spory menší než 4 μm , jež jsou schopné proniknout až do plicních alveolů a zde vyvolat alergickou alveolitidu [4; 21; 23].

Diagnostika mykoalergii, ale i pylových nebo jiných alergií se nejčastěji provádí kožními testy, kdy se vpraví do kůže (epidermis) předloktí malé množství příslušného alergenu o známé koncentraci. Při pozitivní reakci se objeví v místě aplikace pupen se zarudnutím kůže [4; 21].

5 Charakteristika mykotoxinů

Mykotoxiny jsou biosyntetizovány jako tzv. sekundární metabolity mikromycet. To znamená, že nemají fundamentální význam pro život a buněčný metabolismus mikromycetů ve srovnání s primárními metabolity, bez kterých se žádný organismus neobejde [1; 23; 73].

Stále se vůbec neví, jaký vlastně mají mykotoxiny a obecně sekundární metabolity význam pro daný mikroorganismus. Často se předpokládá, že ve vztahu k ostatním mikroorganismům přírodního prostředí mohou toxinogenní mikroorganismy disponovat určitou evoluční výhodou nebo mohou být zvýhodněny ve vztahu k ostatním organismům [8].

Termín „mykotoxiny“ je tedy rezervován jen pro mikromycety. Naproti tomu jedovaté produkty vyšších hub, například muchomůrek, se jednoduše označují jako toxiny hub (houbové toxiny) [73].

Obecně lze rozdělit mikromycety na netoxinogenní a potenciálně (fakultativně) toxinogenní. Netoxinogenní druhy nikdy za žádných okolností nevytvářejí toxické produkty. Potenciálně toxinogenní druhy mohou vytvářet mykotoxiny za určitých příznivých podmínek. Avšak za nepříznivých podmínek je nevytvářejí. V praxi, zejména v potravinářské oblasti, předpokládáme v případě výskytu toxinogenního druhu plísně pravděpodobnou produkci mykotoxinu, i když tomu tak vůbec nemusí být. Tvorbu mykotoxinů je potom nutné prokázat analytickými metodami [7; 73].

Při posuzování produkce mykotoxinů konkrétními mikromycetami byly postupně objeveny určité základní skutečnosti [8; 73]:

- a) Určitý mykotoxin může být vytvářen zástupci dvou nebo i několika druhů, které mohou patřit k odlišným rodům.
- b) Ovšem zase i naopak jeden druh toxinogenní plísně může současně syntetizovat nejen dva, ale i více různých mykotoxinů.
- c) Jak již bylo uvedeno výše, výskyt toxinogenní plísně v potravinách ještě nemusí indikovat produkci mykotoxinů.
- d) Je však možná i obrácená situace. V potravině nebo v krmivu již vůbec nemusí být prokázána toxinogenní plíseň, přesto je v nich obsažen nebezpečný mykotoxin.

Určitými tepelnými úpravami (například pasterizací nebo i sterilizací) mohou být toxinogenní mikromycety eliminovány nebo totálně destruovány, ale odolné mykotoxiny nejsou inaktivovány a zůstávají účinné. Mohou se tím dostat do organismu člověka nebo domácích a také rovněž hospodářských zvířat.

5.1 Závislost produkce mykotoxinů na fyzikálních, chemických a biologických faktorech

Tvorba mykotoxinů potenciálně toxinogenními kmeny mikromycetů závisí na celém komplexu biologických, chemických a fyzikálních faktorů. Je možné především uvést vlhkost, teplotu, a reakci na pH kontaminovaného substrátu nebo jeho bezprostředního vnějšího okolí, rovněž i jeho složení, dále přítomnost kyslíku nebo oxidu uhličitého, délku skladování konkrétního produktu a jeho případné poškození. Do biologických faktorů náleží vzájemné vztahy mezi přítomnými mikroorganismy (tzv. mikrobiální interakce), ale rovněž i přítomnost hmyzu a roztočů, které mohou přenášet spory toxinogenních mikromycet na substráty a tím je kontaminovat [4; 5].

Do fyzikálních faktorů, které mohou ovlivnit produkci mykotoxinů lze zařadit zejména teplotu a vodní aktivitu, která vyjadřuje dostupnost a stupeň využití vody pro mikroorganismy. Tyto dva faktory mohou do velké míry ovlivňovat jak pozitivně, tak i negativně biosyntézu toxinů u mikromycet [4; 5].

U některých mikromycet (například *A. flavus* nebo *A. ochraceus*) je optimální teplota růstu velmi blízká teplotě pro produkci mykotoxinů. Často je zde mezi teplotami pouze nepodstatný rozdíl. Na druhé straně bylo zjištěno, že u jiných mikromycet je nejpříznivější teplota pro tvorbu mykotoxinů nižší než jejich teplotní růstové optimum. Velkou roli hraje rovněž vodní aktivita (označovaná symbolem a_w , water activity) vyjádřená desetinným číslem (rozmezí 0-1,0) nebo relativní vlhkostí (humiditou) udávanou v procentech (0-100 %).

Uvádí se, že zástupci rodu *Fusarium* vyžadují pro svůj růst a rozmnožování prostředí s vyšší vodní aktivitou, přibližně v rozmezí 0,98-0,99. Zase naopak mikromycety napadající skladované produkty mohou syntetizovat mykotoxiny i při hodnotě a_w nižší než 0,73 [4; 5; 16; 34].

Chemické složení substrátu, zvláště přítomnost aminokyselin, proteinů, sacharidů a vitaminů, je velmi významné nejen pro růst mikromycetů, ale i pro produkci jejich mykotoxinů. Existuje poměrně značně široké spektrum různých substrátů vhodných pro produkci mykotoxinů. Jsou to nejen zemědělské plodiny a jejich orgány (listy, lodyhy), produkty (například zrní, ovoce nebo semena), ale i potraviny živočišného původu. Některé mikromycety preferují více určité substráty, například arašídů a sója jsou velmi vhodným substrátem pro *A. ochraceus*, který na nich produkuje maximální množství ochratoxinu [2; 4; 5; 16].

Na produkci mykotoxinů má velký vliv také aplikace nejrůznějších pesticidů na ochranu rostlin jak proti plevelům (herbicity), tak i insekticidů nebo fungicidů pro ochranu rostlin před živočišnými a mikrobiálními škůdci. V této souvislosti lze uvést, že například použitím

subletálních dávek kyseliny propionové (působící *de facto* jako dezinfekční látka) na *Aspergillus flavus* došlo podstatně k omezení jeho růstu, avšak přesto produkce mykotoxinů nebyla snížena [4; 5; 12].

Pesticidy je nutné vždy správně aplikovat podle předepsaných agrotechnických zásad. Některými studiemi bylo prokázáno, že při nevhodně zvolených dávkách pesticidů může naopak docházet ke stimulaci tvorby mykotoxinů [4; 5; 12].

Mikromycety jsou většinou aerobními mikroorganismy vyžadujícími pro svůj růst přítomnost kyslíku v okolní atmosféře. Existují však i druhy, které mohou vegetovat i v částečně anaerobním prostředí. Například *Byssochlamys fulva* (v konidiovém stádiu označovaném jako *Paecilomyces fulvus*) může způsobovat někdy značné problémy v konzervárenství. Rozmnožuje se jak konidiiemi, tak i askosporami, které jsou značně tepelně odolné a mohou přežít pasterační teplotu. Tento druh roste i při sníženém obsahu kyslíku v prostředí a nevádí mu ani přítomnost oxidu siřičitého [22].

Značný vliv na biosyntézu mykotoxinů může mít zvýšený obsah oxidu uhličitého v prostředí. Při něm může být totálně zablokována tvorba mykotoxinů, zatímco růst mikromycety může ještě pokračovat. U druhu *A. ochraceus* byla tvorba ochratoxinu potlačena v přítomnosti 30 % oxidu uhličitého, ale jeho růst se úplně zastavil až při 60 % obsahu CO₂. Všeobecně lze shrnout, že tvorba mykotoxinů více závisí na složení atmosféry ve srovnání s vlastním růstem konkrétních mikromycetů [4; 5; 16].

Plísně mohou růst v širokém rozmezí hodnot pH. Bylo zjištěno, že u druhů mikromycetů produkujících aflatoxiny nastává adekvátní růst již při pH od 5,0, ačkoliv optimální produkce vyžaduje vyšší hodnoty pH [2; 16].

Nelze ani podceňovat negativní vliv – v podobě působení hmyzu, zvláště v tropických oblastech. Hmyz často poškozuje vnější ochrannou vrstvu obilí nebo i jiných produktů a současně narušený povrch kontaminuje spory mikromycet. Hmyz a rovněž roztoči mohou přenášet spory mikromycet na další vhodné substráty, kde potom dochází k jejich vyklíčení, růstu mikromycet a následné tvorbě mykotoxinů. Bylo zjištěno, že například hromadné nálety hmyzu mohou způsobovat kontaminaci podzemnice olejné nebo kukuřice mikromycety *A. flavus* a jeho mykotoxiny [5; 16].

V případě mikrobiální interakce se jedná o současnou přítomnost toxinogenní mikromycety a další mikromycety nebo bakterií na stejném místě (mikrooblasti) substrátu. Mikroorganismy se v kontaktní zóně vzájemně ovlivňují, a proto může dojít nejen ke snížení produkce mykotoxinů, ale i k úplnému potlačení jejich tvorby. Například, pokud je vhodný potravinový substrát současně kontaminován spory *A. flavus* a *A. niger*, potom dochází k průkazně nižší syntéze aflatoxinů [4].

5.2 Vzájemné interakce mykotoxinů

Pokud se v daném substrátu vyskytnou nejméně dva nebo i více mykotoxinů, mohou se jejich patogenní účinky na daný organismus člověka nebo zvířete vzájemně ovlivňovat. Může nastat případ tzv. synergismu, kdy mykotoxiny ve svém negativním účinku vzájemně „spolupracují“. Tím se jejich účinek zesiluje. Může dojít k aditivnímu působení a jejich patogenní efekt se sečte. Také jsou známé případy, kdy dochází k jejich multiplikativnímu (potencovanému) účinku, tzn., že jejich působení se znásobí [4; 75].

Naproti tomu je možné i antagonistické, tedy protichůdné působení. Potom se jejich účinek zeslabí nebo dokonce i úplně potlačí. Konečně se může vyskytnout situace, která se označuje jako nulová interakce a mykotoxiny se vůbec vzájemně neovlivňují [1; 4].

Synergicky působí například deoxynivalenol (DON) s fumonisinem B₁, ochratoxinem nebo zearalenonem. Ochratoxin (OTA) zase synergicky účinkuje s kyselinou penicilovou nebo T-2 toxinem. Existují další případy synergického působení konkrétních mykotoxinů [4].

5.3 Obecné rozdělení mykotoxinů podle typu jejich toxicity

Mykotoxiny se řadí k tzv. přírodním, neboli naturálním toxinům, které se vyznačují nejen akutními nebo chronickými účinky, ale i časově opožděnými účinky (pozdními toxickými účinky) [1; 4; 8; 23].

5.3.1 Akutní a chronické účinky

K akutním otravám dochází v krátkém časovém období po jednorázové nebo opakované dávce mykotoxinu, který je ve větší koncentraci obsažen v kontaminované potravine [1; 8; 23; 73].

Naproti tomu chronické otravy se vyvíjejí za delší časové období a vznikají při opakované konzumaci potravin s menším obsahem mykotoxinů. Dochází k postupné kumulaci jednoho nebo více mykotoxinů v organismu [1; 8; 23; 73].

Mykotoxiny se mohou rozčleňovat podle patologického působení na cílové orgány nebo orgánové systémy. Z tohoto hlediska rozeznáváme následující skupiny mykotoxinů:

- a) *dermatotoxiny* s negativním působením na kůži (nekrotizace) a její deriváty. Patří sem například trichotheceny, verukariny nebo sporidesminy,
- b) *estrogeny*, typickým zástupcem je zearalenon,
- c) *hematotoxiny* s patogenním působením na krevní systém, které zahrnují zvláště aflatoxiny, ochratoxin A, trichoteceny a zearalenon,

- d) *hepatotoxiny* ovlivňující negativně histochemickou strukturu a funkci jater, kdy může docházet až ke kancerogenezi,
- e) *imunotoxiny* s nepříznivým účinkem na imunitní systém (například aflatoxiny, ochratoxin A, patulin, sporidesmin nebo trichoteceny). Dochází k oslabení obranyschopnosti organismů a tím k většímu výskytu různých infekčních onemocnění a konečně poslední skupinou jsou
- f) *genotoxiny* projevující se negativním působením na geny. Ovlivňují kvalitativně i kvantitativně přenos genetické informace v buňkách včetně replikace, transkripce a translace. Mohou prokazovat tyto konkrétnější patologické účinky: mutagenní, karcinogenní, embryotoxické, teratogenní, imunosupresivní a alergenní [1; 7; 23; 24; 46].

5.3.2 Pozdní toxické účinky

Mezi pozdní účinky patří účinky genotoxické. Jsou to účinky mutagenní, karcinogenní, embryotoxické včetně teratogenních. Dále mezi pozdní účinky patří účinky imunosupresivní a alergenní [1; 8; 23].

Faktory vyvolávající mutace se obecně označují jako mutageny. Některé mykotoxiny mohou způsobovat chromozomální mutace, což jsou strukturální změny chromozomů, také označované jako chromozomální aberace. Chromozomální aberace mohou být příčinou tzv. reprodukční smrti buněk, která představuje neschopnost dalšího dělení buněk [46].

Indukci chromozomálních aberací mohou vyvolat zejména aflatoxiny, ochratoxin A, kyselina penicilová, sterigmatocystin, patulin a další mykotoxiny. Řada tzv. mutagenních mykotoxinů může způsobovat gametické mutace. Tyto mutace se u experimentálních zvířat projevují ve stadiu oogeneze a spermatogeneze. Nejlépe prostudovaným mykotoxinem s mutagenním potenciálem je aflatoxin B₁ [8; 23; 46].

Bylo prokázáno, že celá řada mykotoxinů je karcinogenních nebo potenciálně karcinogenních. Tato aktivita koreluje s účinkem mutagenním. Mykotoxiny mohou iniciovat nádorovou transformaci buněk nebo jsou jejími promotory. IARC/WHO (International agency for research on cancer/World health organization, Mezinárodní organizace pro výzkum rakoviny pod záštitou Světové zdravotnické organizace) z hlediska karcinogenních účinků řadí mykotoxiny do několika kategorií (kategorie 1-4). Prokázaným karcinogenem pro člověka (kategorie 1) je například aflatoxin B₁, pravděpodobným karcinogenem (kategorie 2A) jsou například fumonisiny, možným karcinogenem (kategorie 2B) je například ochratoxin A. Do kategorie 3 se řadí mykotoxiny (například patulin), u kterých zatím karcinogenita pro člověka nebyla prokázána, pro její průkaz chybí dostatek poznatků. Řada mykotoxinů spadá do

kategorie 4 (není pravděpodobně karcinogenní), ale mohou se uplatnit jako promotory nádorového procesu, například zearalenon [1; 7; 8; 23; 43; 46; 73].

Embryotoxické, teratogenní mykotoxiny ovlivňují morfogenetické procesy v průběhu embryogeneze a jsou podkladem vývojových vad. Před více než 40 lety byla popsána schopnost aflatoxinu B₁ vyvolat vývojové poruchy u myši, potkanů a křečků. Předmětem výzkumu byly také kuřecí zárodky. Jejich teratogeneze byla také vyvolána mnohými mykotoxiny. Tyto laboratorní výsledky je však velmi složité přenášet či extrapolovat na člověka. Nicméně se předpokládá, že by některé mykotoxiny konzumované ve vyšších dávkách a po delší dobu mohly mít velmi nepříznivý vliv i na vývoj plodu v období embryogeneze [1; 4; 8; 43; 43].

6 Nejdůležitější mykotoxiny a jejich charakteristika

6.1 Aflatoxiny

Název aflatoxiny vznikl ze slovního spojení „*Aspergillus flavus* toxins“ [4]. Aflatoxiny patří vzhledem k extrémně vysoké toxicitě k nejdůležitějším, nejvíce sledovaným a nejprostudovanějším mykotoxinům [42; 43; 46].

Dosud je známo asi 20 aflatoxinů, z nichž primárně důležité pro lidské zdraví jsou: aflatoxin B₁ (AFB₁), aflatoxin G₁ (AFG₁), aflatoxin M₁ (AFM₁) a aflatoxikol AFR_o (derivát aflatoxinů, v krvi koluje vázán na albuminy). Dalšími typy jsou například: aflatoxin B₂ (AFB₂), aflatoxin D₁ (AFD₁), aflatoxin G₂ (AFG₂), AFG_{2a}, atd. [4; 44; 46].

Významnými producenty aflatoxinů jsou především zástupci vláknitých mikromycet rodu *Aspergillus*, a to: *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. argentinicus*, *A. bombycis*, *A. nominus*, *A. tamarii*, *A. pseudotamarii*, *A. zhaoqingensis* [46; 76; 80; 81].

A. flavus je rozšířen kosmopolitně. Častým kontaminantem zemědělských plodin s následnou tvorbou aflatoxinů vlivem teplého klimatu tropů a subtropů je *A. parasiticus*. Při vhodných podmínkách (teplota, vlhkost) výše zmíněné aspergily rostou a produkují aflatoxiny téměř na všech organických substrátech a napadají celou řadu zemědělských komodit. K napadení rostlin dochází zejména při zvýšeném poškození rostlin hmyzem, při stresu rostlin za sucha a při špatných skladovacích podmínkách úrody, zejména ve vlhku a podobně [5; 46; 79].

6.1.1 Základní chemická a fyzikální charakteristika vybraných aflatoxinů

6.1.1.1 Aflatoxin B₁

Chemický název: Cyclopenta(c)furo(3',2':4,5)furo(2,3-h)(1)benzopyran-1,11-dione,
2,3,6a,9a-tetrahydro-4-methoxy-, (6aR-cis)-

Molekulová hmotnost: 312,27358 g/mol

Sumární vzorec: C₁₇H₁₂O₆

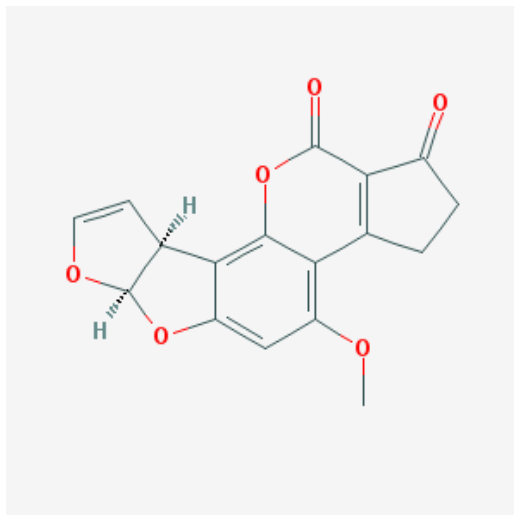
Vzhled: světle žluté krystaly, v UV světle emituje modrou fluorescenci

Bod tání: 268 – 269 °C

Optická otáčivost: (α)_D²⁵ – 480 ° (c = 0,1 v dimethylformamidu)

Rozpustnost: nerozpustný v nepolárních rozpouštědlech, málo rozpustný ve vodě,
dobře rozpustný v polárních organických rozpouštědlech [8; 46; 49;
65; 85]

Obr. 14: 2D strukturní vzorec mykotoxinu aflatoxinu B₁

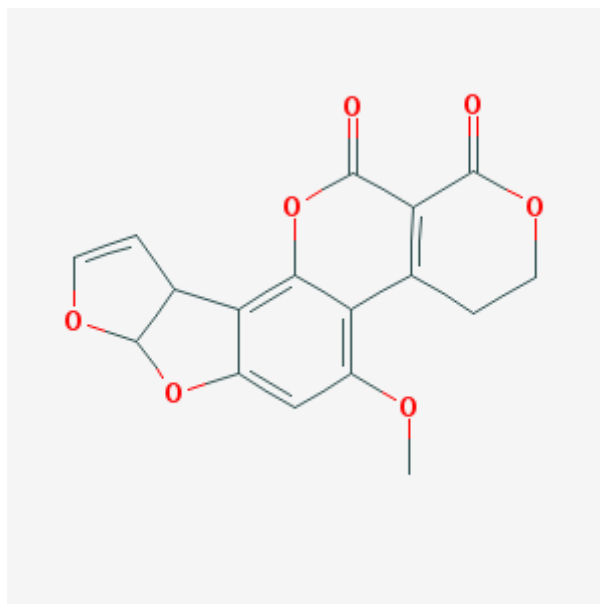


Zdroj: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=186907#itabs-2d> [86]

6.1.1.2 Aflatoxin G₁

Chemický název:	1H, 12H-Furo(3',2': 4,5)furo (2,3-h) pyrano (3, 4-c)(1)benzopyran-1,12-dione, 3,4,7a,10a-tetrahydro-5-methoxy-, (7 aR-cis)-
Molekulová hmotnost:	328,27298 g/mol
Sumární vzorec:	C ₁₇ H ₁₂ O ₇
Vzhled:	bílý až světle žlutý prášek, v UV světle emituje modrou fluorescenci
Bod tání:	244 – 246 °C
Optická otáčivost:	(α) _D ²⁵ – 556 ° (c = 1 v chloroformu)
Rozpustnost:	nerozpustný v nepolárních rozpouštědlech, málo rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v polárních organických rozpouštědlech [4; 8; 46; 49; 65; 87]

Obr. 15: 2D strukturní vzorec mykotoxinu aflatoxinu G₁



Zdroj: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=14421&loc=ec_res#x27 [87]

6.1.1.3 Aflatoxin M₁

Chemický název: Cyclopenta(c)furo(3',2':4,5)furo(2,3-h)(1)benzopyran-1,11-dione, 2,3,6a,9a-tetrahydro-9a-hydroxy-4-methoxy-, (6aR-cis)-

Molekulová hmotnost: 328,27298 g/mol

Sumární vzorec: C₁₇H₁₂O₇

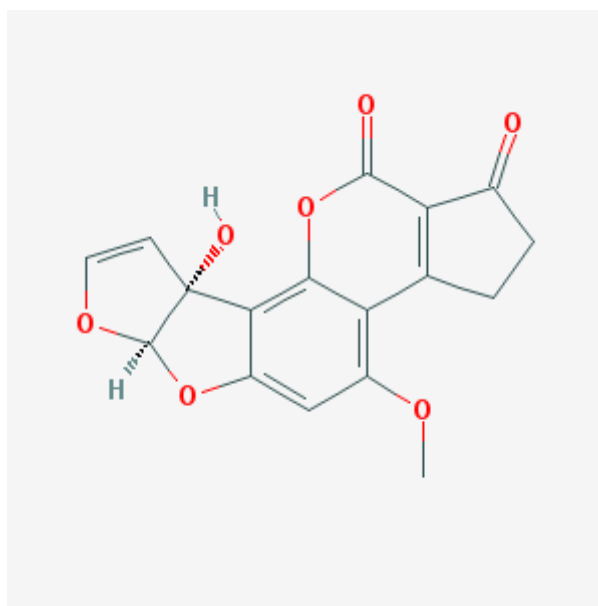
Vzhled: prášek, v UV světle emituje modro-fialovou fluorescenci

Bod tání: 299 °C

Optická otáčivost: (α)_D²⁵ – 280 ° (c = 0,1 v dimethylformamidu)

Rozpustnost: nerozpustný v hexanu, málo rozpustný v benzenu, rozpustný v methanolu, ethanolu, acetonitrilu, chloroformu [4; 8; 46; 49; 65; 88]

Obr. 16: 2D strukturní vzorec mykotoxinu aflatoxinu M₁



Zdroj: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=15558498&loc=ec_rcs#x27 [88]

6.1.1.4 Aflatoxikol

Aflatoxikol (AFR₀) je produkt biotransformace aflatoxinů. Jeden z jeho stereozomerů, přírodní epimer, vykazuje vysoký genotoxický a karcinogenní potenciál jako aflatoxin B₁ [4; 89].

Chemický název: Cyclopenta(c)furo(3',2':4,5)furo(2,3-h)(1)benzopyran-11(1H)-one,
2,3,6a,9a-tetrahydro-1-hydroxy-4-methoxy-, (1S,6aR,9aS)-

Molekulová hmotnost: 314,28946 g/mol

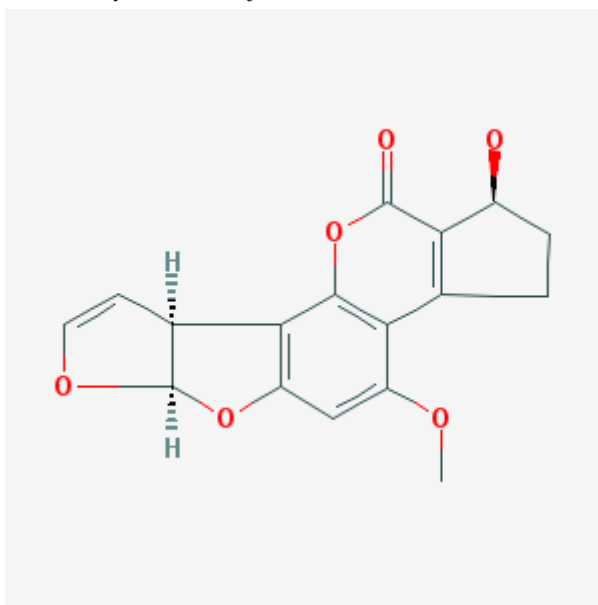
Sumární vzorec: C₁₇H₁₄O₆

Vzhled: pevná látka – prášek

Bod tání: 268 – 269 °C

Rozpustnost: rozpustný v methanolu, ethanolu, etylacetátu, dimethylsulfoxidu,
nerozpustný ve vodě [89].

Obr. 17: 2D strukturní vzorec mykotoxinu aflatoxikolu



Zdroj: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?sid=135060462&loc=es_rss [89]

6.1.2 Výskyt aflatoxinů v potravinách, krmivech a v potravinových surovinách

Hlavním zdrojem aflatoxinů ve výživě člověka i zvířat jsou potraviny a potravinové suroviny zamořené mikromycetami produkujícími tyto toxiny, tedy aspergily. K zamoření nejen potravinových, ale také surovinových komodit (například bavlna) aspergily může dojít jak před sklizní, tak i během sklizně, či po sklizni [5; 58].

AFB₁, AFB₂ a AFG₁ se ve vzorcích potravin vyskytují běžně, výskytem v potravinových vzorcích dominuje zejména AFB₁ (60 – 80 % celkového obsahu aflatoxinů) [4; 46].

Je známo, že AFB₂, AFG₁, AFG₂ se vyskytují pouze ve vzorcích, které obsahují AFB₁ [4; 46].

Hlavní zemědělské komodity a potraviny obsahující aflatoxiny AFB₁ a AFG₁ ve vysoké koncentraci jsou: bavlna; podzemnice olejná¹ (arašídový) a potraviny z ní vyrobené - arašídová pasta, arašídová omáčka, kandované arašídové, kukuřice a kukuřičné výrobky - kukuřice mléčná, mražená, sušená; kukuřičné otruby, kukuřičný slad, kukuřičný škrob, či pistáciové ořechy (2; 4; 5; 46). Dále obsahují výše zmíněné aflatoxiny ve významné koncentraci například: cereální snídaně, česnek, koření - pepř, kayenský pepř, chilli, muškátový ořech, kmín; kokosové a další ořechy - brazilské, pekanové, vlašské, sezamové semínko; káva, kakao, čokoláda [2; 4; 5].

AFM₁ bývá obsažen v kukuřici, másle, jogurtu, mléku a mléčných výrobcích a v různých druzích sýra [46; 76; 82].

AFG₂ bývá přítomen u potravin jako je tomu v případě AFB₁, navíc ale také může být přítomen v citrusech (pomeranče, citrony), či mangu [4; 46].

Další obiloviny (ječmen, žito, oves, rýže) a sójové boby nejsou hlavními potravinovými zdroji aflatoxinů, pokud nedojde vlivem nevhodného skladování k sekundární kontaminaci [5; 46; 79].

6.1.3 Toxické účinky aflatoxinů

Aflatoxiny byly prvně izolovány a charakterizovány na základě incidentu v roce 1960 na drůbeží farmě v blízkosti Londýna, kde došlo k úhynu desetitisíců mladých krůt. Onemocnění bylo nazváno „Turkey X disease“, neboli krůtí X onemocnění. Zdrojem toxinů, který byl původcem úhynu velkého počtu chovaných zvířat, bylo krmivo obsahující kontaminovanou arašídovou moučku [8; 46; 47; 76; 79].

Mezi hlavní toxické účinky aflatoxinů patří hepatotoxicita, imunotoxicita, mutagenita, karcinogenita, teratogenita [8; 43; 44; 46; 47; 79; 83].

¹ pozn.: U podzemnice a kukuřice je především před sklizňové zamoření mikromycetami *A. flavus*

Onemocnění vzniklé po konzumaci potravin a krmiv kontaminovaných vysokými koncentracemi aflatoxinů se nazývá aflatoxikóza [79].

Cílovým orgánem aflatoxinů jsou játra, odehrává se v nich primární metabolická transformace. V případě ne příliš časté akutní intoxikace u lidí a zvířat se hepatotoxické účinky projevují selháním jater s histopatologickým nálezem ložiskových nekros (nekrózy hepatocytů) a proliferací žlučových. Chronická intoxikace vede k rozvoji chronických degenerativních změn, fibróze a cirhóze jater [44; 47; 83]. Dále mohou být postiženy plíce, myokard, ledviny [4; 47].

Vnímavost různých živočišných druhů k aflatoxinům je různá, roli hrají věk, pohlaví, celkový stav zvířete a způsob podání dávky. Toxicita aflatoxinů klesá v následujícím pořadí: AFB₁, AFM₁, AFG₁, AFB₂ [1; 4; 47].

U celé řady živočišných druhů byly prokázány další toxické účinky aflatoxinů, a to: karcinogenita a mutagenita. Mezi nejúčinnější karcinogeny lze zařadit AFB₁, AFM₁ a aflatoxikol [4; 46; 89].

Dle IARC/WHO je prokázaným karcinogenem pro člověka zatím pouze AFB₁. AFB₁ se může podílet nejen na iniciaci lidského hepatomu, ale nelze vyloučit ani podíl na vzniku karcinomu plic [4; 43; 46].

AFB₁ je nejvýznamnější mutagen z dosud studovaných mykotoxinů. Jde o tzv. genotoxické agens, které působí přímo na úrovni DNA. Tento toxin je metabolizován prostřednictvím cytochromu P450 na reaktivní intermediát, AFB₁-8, 9 epoxid, který se váže na DNA jaterních buněk za vzniku DNA aduktů. Tyto adukty dále interagují s guaninovými bázemi DNA jaterních buněk a způsobují tímto mutace v tumor supresorovém genu *p53*, v kodonu 249, což může vést k rozvoji primárního hepatocelulárního karcinomu [9; 45; 46; 83; 84; 78].

U AFB₁ byla rovněž experimentálně prokázána teratogenita a to například na kuřecích embryích a křečcích, která se projevovала různými typy malformací, ale také patologickými abnormalitami ve výsledcích krevních biochemických testů experimentálních zvířat [4; 46; 84].

AFB₁ lze také přiřadit imunotoxický potenciál. Bylo zjištěno, že u řady laboratorních zvířat potlačuje imunitní odpověď. Mechanismy imunosuprese jsou rozličné v závislosti na expoziční dávce a typu podání. AFB₁ potlačuje například aktivitu C4 složky komplementu, tvorbu interleukinu 1 (IL-1) a interleukinu 2 (IL-2) [46].

Dále bylo například prokázáno, že u osob profesionálně inhalačně exponovaných prachem, kontaminovaným AFB₁, který vzniká při zpracování cereálií, dochází k potlačení fagocytózy alveolárních makrofágů [4; 46; 47].

6.2 Ochratoxin A

Významnými a celosvětově rozšířenými producenty ochratoxinu (OTA) jsou především dva rody a to: *Aspergillus* a *Penicillium* [5; 48; 90; 92; 93].

Za nejdůležitějšího producenta je považován druh *A. ochraceus* [5; 92].

Vzhledem k tomu, že teplotní optimum pro růst výše zmíněného druhu činí okolo 28 °C, nejlépe těmto podmínkám vyhovují oblasti tropického a subtropického pásma. Dalšími významnými producenty OTA z rodu *Aspergillus* jsou například: *A. alliaceus*, *A. elegans*, *A. glaucus*, *A. melleus*, *A. niger* a další [92; 93].

Naproti tomu v chladných oblastech je OTA produkován spíše mikromycetami rodu *Penicillium*, a to již od teploty 4 °C do 30 °C. Mezi významné producenty OTA tohoto rodu mikromicet patří například: *P. verrucosum*, *P. commune*, *P. aurantiogriseum*, *P. variabile* a další [48; 90].

6.2.1 Základní chemická a fyzikální charakteristika ochratoxinu A

Chemický název: L-Phenylalanine, N-((5-chloro-3, 4-dihydro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-1-H-2-benzopyran-7-yl)carbonyl)-, (R)-

Molekulová hmotnost: 403,81302 g/mol

Sumární vzorec: C₂₀H₁₈O₆ClN

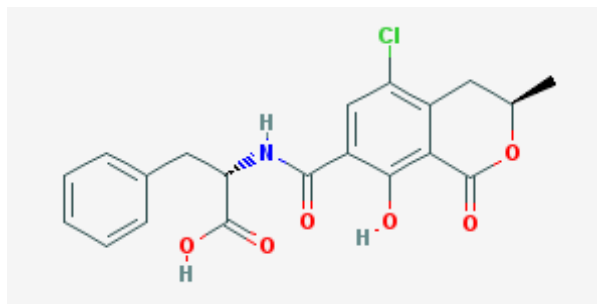
Vzhled: bílá krystalická látka

Bod tání: 168 – 173 °C

Optická otáčivost: (α)_D²¹ – 46,8 ° (c = 2,65 v chloroformu)

Rozpustnost: rozpustný v organických rozpouštědlech (chloroformu, ethanolu a methanolu) [4; 46; 65; 96]

Obr. 18: 2D strukturní vzorec ochratoxinu A



Zdroj: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=442530&loc=ec_rcs [96]

6.2.2 Výskyt ochratoxinu A v potravinách, krmivech a v potravinových surovinách

OTA se vyskytuje v řadě potravin a krmiv jak rostlinného, tak živočišného původu [2; 5; 49; 50; 90].

OTA bývá přítomen zejména v cereáliích, vepřovém masu, vnitřnostech (zejména játra, ledviny), krvi, kávě, čaji, pivu, luštěninách, či koření. Dále bývá také přítomen například v sušeném ovoci, jako jsou rozinky, v lékořici, červeném a růžovém vínu, grepové šťávě, či vinném octu [5; 49; 50; 90].

Výskyt OTA v rozinkách tureckého, řeckého a amerického původu byl poprvé zjištěn v 90. letech minulého století ve Velké Británii. Desítky vzorků prokázaly přítomnost OTA v různých koncentracích [4; 5].

V ČR následně v rámci projektu MYKOMON v letech 1999 – 2002 byly podrobeny mykologickému vyšetření vzorky rozinek z různých obchodních sítí od různých výrobců ve 12 městech. Ve všech vzorcích byl izolován *A. niger*, tedy potenciální producent OTA a následovala kvantitativní analýza všech pozitivních vzorků. Výskyt OTA v rozinkách je stále aktuální a je trvale sledován a kontrolován [4; 90].

Další komoditou, která již na přelomu minulého století byla podrobena zkoumání z hlediska výskytu OTA, byly alkoholické nápoje, červené a růžové víno a pivo [5; 49].

V roce 1999, za účelem validace metody stanovení OTA, skupina vědců v Itálii zahájila studii v 15 evropských laboratořích, při které byly vyšetřeny vzorky červených, bílých a růžových vín. Většina vzorků byla kontaminována OTA v různém rozsahu koncentrací, hlavně vína červená [90].

Složitější situace se týká výskytu OTA v kravském mléce a následně v mléčných produktech. Studie prováděná na dojnících plemene Jersey z roku 1979 neprokázala OTA ani jeho metabolity v mléce ani po skrmení krmiva kontaminovaného OTA v určité koncentraci. Přesto studie ve Švédsku v roce 1993 zaměřená na mléko, které se dostává ke spotřebiteli, prokázala v tomto mléce OTA. Pravděpodobně totiž u dojnic plemene Jersey slouží předžaludky jako velmi dobrá bariéra pro přestup OTA [4; 49; 90].

6.2.3 Toxické účinky ochratoxinu

K hlavním akutním, chronickým a pozdním toxickým účinkům OTA patří: nefrotoxicita, mutagenita, karcinogenita, imunotoxicita, teratogenita a neurotoxicita [5; 7; 49; 50; 51; 90].

Onemocnění vyskytující se celosvětově u lidí a zvířat v souvislosti s příjmem OTA v potravinách a krmivech se nazývá ochratoxikóza [4; 5; 40; 51].

Mechanismy účinků, které stojí za toxicitou OTA, spočívají v: inhibici syntézy proteinů, lipidové peroxidaci membrán, porušení metabolismu/homeostáze vápníku, inhibici mitochondriální respirace, poškození DNA a porušení metabolismu cukrů [95; 4; 94].

OTA je významným nefrotoxinem. Cílovým orgánem OTA jsou ledviny. Z experimentálních prací o nefrotoxicitě je zřejmé, že OTA je potenciálně nefrotoxický pro všechny živočišné druhy použité pro modelové testování (prasata, potkani, kuřata) kromě dospělých přežvýkavců. OTA narušuje metabolické pochody uvnitř renální buňky a tento buněčný rozvrat vede následně k apoptóze buněk. Významně narušuje funkce všech částí nefronu, zejména funkci proximálního tubulu, způsobuje pokles glomerulární filtrace a tubulární resorpce [4; 7; 49; 90; 95].

Například u prasat se mykotická nefropatie projevuje zvětšením ledvin, atrofií kůry, fibrózou a poškozením proximálních tubulů [40; 49; 97].

U člověka je patofyziologický obraz podobný. V 50. letech byly zaznamenány případy nefropatie u lidí v Jugoslávii, Bulharsku a Rumunsku. Pro toto onemocnění bylo zavedeno pojmenování „balkánská endemická nefropatie“ (BEN). Předpokládá se ovšem, že za nefropatií nemusel a nemusí stát pouze OTA, ale že pravděpodobně se na rozvoji nefropatie podílí i jiné mykotoxiny [40; 49; 51; 52; 97; 123].

Při studii genotoxického potenciálu OTA byla za pomoci SOS chromotestu (detekce poškození DNA pomocí mutantního kmene PQ37 *E. coli* odvozeného od divokého kmene K12) prokázána přímá mutagenita [4; 49; 91].

OTA je zařazen mezi látky s možným karcinogenním působením, tedy mezi karcinogeny kategorie 2B. Hypotéza, že expozice OTA je pravděpodobně zodpovědná za iniciaci karcinogeneze vyplývá ze souvislosti mezi výskytem nádorů v populaci právě s vysokou expozicí OTA či u pacientů s balkánskou endemickou nefropatií [43; 49; 50; 52].

Experimenty na zvířatech prokázaly také schopnost OTA indukovat embryotoxicitu. V důsledku přímého účinku OTA během embryonálního vývoje dochází k hrubým strukturálním malformacím [43].

Významné jsou také imunosupresivní účinky OTA. Snížení obranyschopnosti organismu a náchylnost k řadě onemocnění, včetně nádorového, je dáno mechanismem inhibice proliferace periferních T a B lymfocytů, dále poruchou tvorby IL-2 a potlačením tvorby interferonu [49; 53].

V praxi je známa také celá řada derivátů OTA, například ochratoxin B. Jeho toxické účinky jsou několikanásobně nižší než OTA. Ochratoxin C má stejnou toxicitu jako OTA, ale výskyt v potravinách a krmivech je vzácný [4].

6.3 Patulin (klaviformin, clavacin)

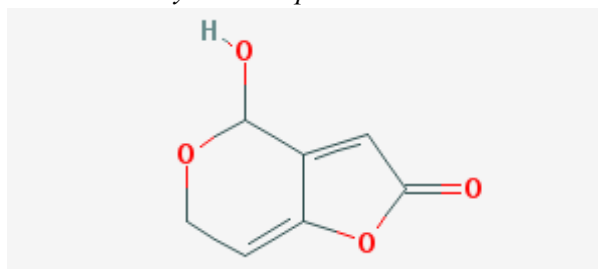
Mykotoxin patulin lze nalézt také pod označením klaviformin, či clavacin. Dva poslední zmiňované názvy byly odvozeny od mikromycety *Penicillium claviforme*, ze které byl v roce 1942 tento mykotoxin poprvé izolován [4; 45; 103].

Při produkci patulinu se uplatňují zejména rody mikromycetů jako jsou: *Aspergillus*, *Penicillium* a *Paecilomyces* (teleomorfa *Byssochlamys*). Nejvýznamnějšími druhy jsou pak: *Penicillium expansum*, *Aspergillus clavatus* a *Byssochlamys nivea* [5; 8].

6.3.1 Základní chemická a fyzikální charakteristika patulinu

Chemický název:	4H-Furo(3,2-c)pyran-2(6H)-one
Molekulová hmotnost:	154,12014 g/mol
Sumární vzorec:	C ₇ H ₆ O ₄
Vzhled:	bezbarvá krystalická látka
Bod tání:	110 – 111 °C, po vysušení 1 hodinu při 60 °C
Optická otáčivost:	(α) _D ²¹ – 6,2 ° (c = 6,489 v chloroformu)
Rozpustnost:	rozpustný ve vodě, v lkohelech, acetonu, benzenu, chloroformu, nerozpustný v petroletheru [4; 46; 65; 104]

Obr. 19: 2D strukturní vzorec mykotoxinu patulinu



Zdroj: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=4696&loc=ec_rcs [104]

6.3.2 Výskyt patulinu v potravinách, krmivech a v potravinových surovinách

Patulin je v přirozených podmínkách běžným kontaminantem jablek a výrobků z nich jako jsou jablečné šťávy, nefiltrované mošty, jablečné pyré, cider [5; 100; 101].

Poškozením povrchové tkáně jablečného plodu se vytvoří vhodné podmínky pro růst plísně s následnou tvorbou patulinu. Avšak i vizuálně zdravé plody mohou patulin zřejmě obsahovat.

Dalším zdrojem je ovoce s přirozenou hnědou hnilobou a výrobky z něho: meruňky, broskve, banány, ananas, hrušky, maliny, kompotované ovoce a džusy [2; 5; 100; 101].

Ke spotřebiteli se tedy patulin dostává zejména špatnými výrobními procesy - používáním plesnivých či nahnilých vstupních surovin, špatným tříděním ovoce [4; 9].

6.3.3 Toxické účinky patulinu

Patulin je toxický pro gramnegativní, grampozitivní bakterie i pro acidorezistentní mykobakterie, viry, prvoky, houby, rostliny, koryše a HeLa buňky. Je středně toxický pro obratlovce [4; 8; 79; 101].

Působí mechanismem kompetitivní a nekompetitivní inhibice na enzymy důležitých biochemických drah metabolismu cukrů, inhibuje klíčové enzymy biosyntézy makromolekul (DNA, RNA) a proteosyntézy. Zvyšuje propustnost buněčných membrán a inhibuje některé membránové enzymy a tím i jejich funkce [4; 8; 101].

Při experimentech na různých živočišných druzích (potkan, myš, křeček, opice) byly pozorovány podobné jevy a podobné histopatologické léze v závislosti na typu podání a dávce patulinu. Společným jmenovatelem byla: ztráta hmotnosti, odmítání stravy a zvýšení mortality úměrně s dávkou, poškození gastrointestinálního traktu, zejména žaludku (hyperémie, hemoragie, ulcerace) a střev (duodena) [4; 98].

U patulinu byly také popsány účinky imunosupresivní, neurotoxické a mutagenní. Genotoxické testy s využitím bakterie *Bacillus subtilis* zcela jasně prokázaly poškození DNA u tohoto bakteriálního druhu. U jiných bakterií, běžně používaných pro studium genotoxicity, jako jsou například *Salmonella typhimurium*, či *Escherichia coli* nedošlo vlivem patulinu k poškození DNA, tedy k průkazu mutagenity. Dále bylo například prokázáno, že patulin je schopen indukovat jedno či dvojitěřetězcové zlomy DNA v modelu *in vitro* u HeLa buněčné linie [4; 43; 84; 99; 101; 102; 103].

Výsledkem toxikologické studie na teratogenitu a emryotoxicitu, která spočívala v intraperitoneálním podání patulinu u myší, bylo: zvýšená frekvence malformací skeletu myší, v přímé úměrnosti s koncentrací dávky a potraty embryí [4; 84; 99; 101].

Patulin zatím není klasifikován jako karcinogen pro člověka, chybí zatím dostatečné relevantní důkazy [4; 7; 101].

6.4 Fumonisin

V roce 1988 skupina vědců z Jihoafrické republiky v čele s Gelderblomem v toxikologické studii izolovala z kultury *Fusarium moniliforme* (*F. moniliforme*) dosud neznámé mykotoxiny. Tyto mykotoxiny dostaly název fumonisin [106; 109].

Dosud byla izolována řada fumonisinů a jejich metabolitů, z nichž významné pro člověka a zvířata jsou zejména fumonisin B₁, B₂, B₃ [4].

Strukturou podobné fumonisinům jsou fytotoxiny s názvem AAL-toxiny (zkratka odvozena od názvu mikromycety produkující tyto toxiny, od *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*), nebo také alperisin. Alperisin jsou označovány za potenciální přírodní herbicidy [4].

V přirozených podmínkách jsou fumonisin častými kontaminanty potravin a krmiv (obilovin), dominuje fumonisin B₁ [5].

Fumonisin jsou produkovány toxinogenními kmeny vláknitých mikromycet rodu *Fusarium*. Významnými producenty jsou zejména následující druhy: *F. moniliforme*, *F. proliferatum*, *F. anthophilum*, *F. oxysporum*, *F. dominii*, *F. nygamai*, *F. napiforme* [4]. Nejvýznamnějším producentem je *F. moniliforme* [5; 109; 54].

6.4.1 Základní chemická a fyzikální charakteristika fumonisinu B₁

Chemický název: 2-[2-[19-amino-6-(3,4-dicarboxybutanoyloxy)-11,16,18-trihydroxy-5,9-dimethylcosan-7-yl]oxy-2-oxoethyl]butanedioic acid

Molekulová hmotnost: 721,82996 g/mol

Sumární vzorec: C₃₄H₅₉NO₁₅

Vzhled: amorfni pevná látka

Bod tání: 103 – 105 °C

Optická otáčivost: $(\alpha)_D^{25} - 28^\circ$ (c = 2,0 mg/ml ve vodě)

Rozpustnost: rozpustný ve vodě, více rozpustný ve směsi acetonitril-voda, dobře rozpustný v methanolu a nerozpustný v nepolárních rozpouštědlech [4; 46; 65; 115]

Nežádoucí a toxické účinky fumonisinů jsou navíc potenciovány synergickým účinkem dalších mykotoxinů přítomných v krmivech a potravinách, například: aflatoxinů, T-2 toxinu, či zearalenonu [5].

6.5 Zearalenon (F-2 toxin)

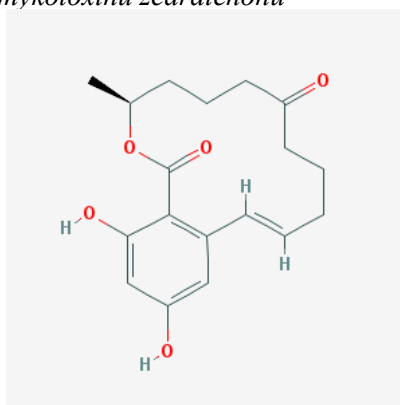
Zearalenon (ZEA) byl údajně prvně izolován Stobem a kol. v roce 1964 z kultury *Gibberella zeae* (anamorfa *F. graminearum*) po kultivaci na mleté kukuřici [4].

Zearalenon je produkován zejména toxinogenními mikromycetami rodu *Fusarium*. Hlavním producentem je *F. graminearum*, které často napadá potravinářské i krmivářské obilí. K dalším významným producentům patří například: *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. sambucinum*, *F. semisectum*, *F. sporotrichioides* [8; 73].

6.5.1 Základní chemická a fyzikální charakteristika zearalenonu

Chemický název:	(S-(E))-3,4,5,6,8,10-Hexahydro-14,16-dihydroxy-3-methyl-1H-2-benzoxacyclotetradecin-1,7(8H)-dione
Molekulová hmotnost:	318,36428 g/mol
Sumární vzorec:	C ₁₈ H ₂₂ O ₅
Vzhled:	bílá krystalická látka
Bod tání:	164 – 165 °C
Optická otáčivost:	(α) _D ²⁵ – 170,5 ° (c = 1,0 v methanolu)
Rozpustnost:	nerozpustný ve vodě, rozpustný v etheru, methanolu, ethanolu a dalších organických rozpouštědlech [4; 46; 65; 120]

Obr. 21: 2D strukturní vzorec mykotoxinu zearalenonu



Zdroj: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=5281576&loc=ec_rcs [120]

6.5.2 Výskyt zearalenonu v potravinách, krmivech a v potravinových surovinách

Toxinogenní fuzaria aktivně produkují zearalenon (ale i jiné mykotoxiny) v obilném zrně, které je nedostatečně vysušené či skladované ve vlhku. Kontaminace je tedy důsledkem zejména nevhodného ošetření a uskladnění obilí. Zearalenon je vhodným indikátorem přítomnosti ostatních mykotoxinů produkovaných fuzariemi v obilném zrně [2; 5].

Hlavním zdrojem zearalenonu jsou obiloviny a obilné produkty: ječmen, kukuřice a produkty z ní vyrobené - „popcorn“, žito, oves, rýže, pšenice (chléb), proso [116]. Zearalenon byl také nalezen v koření jako je: chilli, kari, koriandr, pepř, či fenýkl a v banánech [4; 5; 57].

6.5.3 Toxické účinky zearalenonu

Toxikózy jsou často výsledkem společného působení zearalenonu a trichothecenů. V nízkých koncentracích má zearalenon antagonistický účinek na souběžně se vyskytujícím se trichothecenem DON (jeho účinek snižuje), ve vyšších koncentracích působí s DON naopak synergicky a jeho účinky mírně zvyšuje [4].

U laboratorních zvířat (křeček, myš) byla prokázána velmi nízká akutní toxicita zearalenonu [54; 56].

Nejvážnějším druhem zvířat k zearalenonu jsou prasata. Otravy vzniklé po příjmu zaplísňeného krmiva jsou, zejména u vepřů charakterizovány hyperestrogenním syndromem s příznaky zduření rodidel, zvětšenými prsními žlázami, v nejtěžších případech výhřezem vagíny a rekta. Následkem hyperestrogenismu je neplodnost, případně potrat [55; 56; 113; 116; 117].

Drůbež a přežvýkavci jsou, zdá se poněkud odolnější k vysokým koncentracím zearalenonu. Je to dáno odlišnou metabolizací v některých částech zažívacího traktu [4].

Dále byly prokázány negativní účinky zearalenonu na reprodukci u myší, skotu a ovcí. Opakované dávky v určitých koncentracích například zvýšily sterilitu. Také u jiných živočišných druhů (opice, králík) jsou reprodukční obtíže výsledkem estrogenní aktivity. Při expozici vysokým koncentracím zearalenonu byla u prasat prokázána teratogenita [5; 55; 56; 113; 116; 117; 119]. Možný je i negativní vliv zearalenonu na reprodukci u lidí [116].

Zvažuje se souvislost mezi výskytem několika případů předčasné puberty u dětí v Porto Ricu vlivem estrogenní aktivity zearalenonu, v jejichž krvi byl zearalenon a jeho deriváty prokázány [118].

Z hlediska karcinogenity je zearalenon zařazen do kategorie 3, pravděpodobně není karcinogenní pro člověka, ale může být promotorem nádorového procesu. Bylo prokázáno, že může stimulovat růst buněk lidské prsní žlázy a indukovat proliferaci a karcinogenezi estrogendependentní tkáň mechanismem vazby na estrogenní receptory [7; 43; 57; 119]. Zearalenon vykazuje také účinek anabolický [56].

6.6 Trichotheceny

Dnes je známo více než 80 trichothecenových mykotoxinů. Jsou klasifikovány do dvou základních skupin, jako makrocyklické nebo nemakrocyklické. Tato klasifikace závisí na přítomnosti makrocyklického esteru nebo můstku mezi esterem a etherem. Nemakrocyklické trichotheceny jsou dále klasifikovány do dvou základních skupin, A a B [5].

Nejvýznamnějšími zástupci nemakrocyklických trichothecenů skupiny A jsou T-2 toxin a diacetoxyscirpenol [5; 42; 121].

K nejvýznamnějším zástupcům trichothecenové skupiny B patří: deoxynivalenol, nivalenol a fusarenon-X [5; 40; 42; 121].

Trichotheceny jsou pokládány za nejdůležitější mykotoxiny na světě vzhledem k jejich značnému rozšíření v obilninách a krmivech i vzhledem k vysoké toxicitě pro lidi a hospodářská zvířata [8; 40; 58; 59; 60; 61; 121].

Trichotheceny jsou produkovány zejména plísněmi rodu *Fusarium*. K významným druhům patří například: *F. acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. chlamydosporum*, *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. sporotrichioides* a mnohé další. Dalšími producenty jsou plísně rodu *Myrothecium*, *Trichoderma* a *Trichothecium* [5; 40; 42; 60; 121].

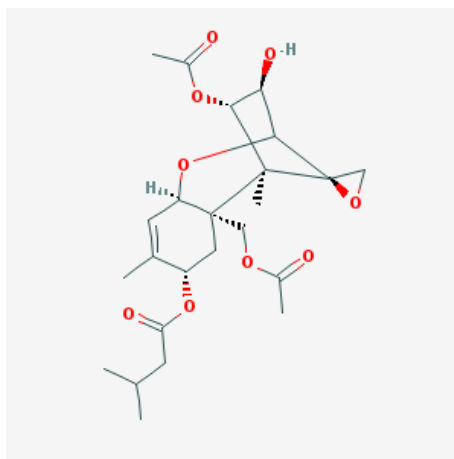
Trichotheceny jsou neobyčejně účinnými inhibitory syntézy bílkovin v eukaryotických buňkách. Mohou působit negativně na iniciační nebo elongační stupeň syntézy bílkovin, rovněž i na stupeň terminační [121; 122; 124].

6.6.1 Základní chemická a fyzikální charakteristika vybraných trichothecenů

6.6.1.1 T-2 toxin

Chemický název:	{3-Hydroxy-4,15-diacetoxy-8-[3-methyl-butiryloxy]-12, 13-epoxytrichothec-9ene }
Molekulová hmotnost:	466,52136 g/mol
Sumární vzorec:	C ₂₄ H ₃₄ O ₉
Vzhled:	bílé krystalické jehličky
Bod tání:	151 – 152 °C
Optická otáčivost:	(α) _D ²⁶ +15 ° (c = 2,58 v ethanolu)
Rozpustnost:	nerozpustný v hexanu a petroletheru, dobře rozpustný a chloroformu a acetonitrilu [4; 8; 46; 65; 130]

Obr. 22: 2D strukturní vzorec mykotoxinu T-2 toxinu



Zdroj: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=6711181&loc=ec_rcs [130]

6.6.1.2 Deoxynivalenol

Deoxynivalenol (DON) je významný zástupce trichothecenové skupiny B [3]. Je nazýván také jako Rd toxin nebo vomitoxin [61].

Chemický název: Trichothec-9-en-8-one, 12, 13-epoxy-3, 7, 15-trihydroxy- (3a,7a)-

Molekulová hmotnost: 296, 3157 g/mol

Sumární vzorec: $C_{15}H_{20}O_6$

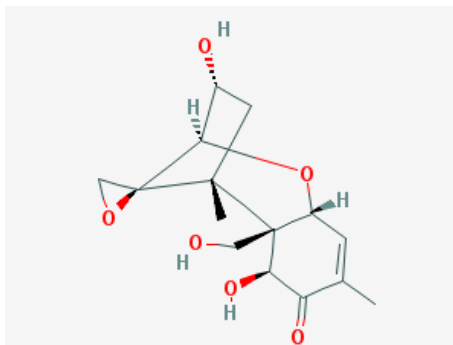
Vzhled: bílé krystalické jehličky

Bod tání: 151 – 153 °C

Optická otáčivost: $(\alpha)_D^{25} + 6,35^\circ$ (c = 0,07 v ethanolu)

Rozpustnost: nerozpustný v hexanu a petroletheru, dobře rozpustný v acetonitrilu, chloroformu [4; 46; 129]

Obr. 23: 2D strukturní vzorec mykotoxinu deoxynivalenolu



Zdroj: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=40024&loc=ec_res [129]

6.6.2 Výskyt trichothecenů, T-2 toxinu a deoxynivalenolu v potravinách, krmivech a v potravinových surovinách

Trichotheceny byly nalezeny hlavně v obilovinách - ječmeni, kukuřici, žitu, ovsí, pšenici a výrobcích z nich, v koření, například v zázvoru, kari, dále v česneku a pivu [4; 5].

DON je pravděpodobně nejběžnějším kontaminantem obilovin ze všech známých mykotoxinů. V obilovinách se vyskytuje často společně s ostatními trichotheceny - nivalenolem, diacetoxyscirpenolem a T-2 toxinem. Nejvyšší koncentrace DON obvykle obsahují obiloviny a výrobky z nich jako pšenice, ječmen, kukuřice. Jedná se o vysoce stabilní toxin, jeho koncentrace se nemění ani technologickým zpracováním vstupních surovin [4; 5; 58; 61; 125].

Vzhledem k rychlé metabolizaci DON u prasat nedochází ke kumulaci jeho metabolitů ve tkáních po předchozím skrmení krmiva s nízkými až středně vysokými koncentracemi DON. Taktéž přechod reziduí DON do mléka, masa a vajec je zanedbatelný [4].

T-2 toxin je běžným kontaminantem rostlinných krmiv rostlinného původu, avšak v potravinách se vyskytuje údajně méně často. Vzhledem k jeho okamžité metabolizaci a eliminaci ze tkání u prasat, nedochází k akumulaci jeho metabolitů. Přestup T-2 toxinu a jeho metabolitů do mléka je menší než 1 % [4; 5].

6.6.3 Toxické účinky trichothecenů, T-2 toxinu a deoxynivalenolu

Trichotheceny jsou vysoce potentními inhibitory syntézy proteinů. Váží se na eukaryotické polyribosomy a inhibují enzymy odpovědné za jednotlivé stupně proteosyntézy. Tato inhibice vede v konečném důsledku k rozvratu funkce membrán, deregulaci buněk a následně k buněčné smrti [121; 122; 123; 124; 126; 128].

Prvním trichothecenem, u kterého byl prokázán inhibiční účinek na syntézu bílkovin, v tomto případě inhibiční účinek na enzym peptidyltransferázu v terminačním stupni proteosyntézy, byl trichodermin [121; 122; 123].

T-2 toxin inhibuje iniciaci proteinové syntézy [4].

Expozice T-2 toxinu se na zvířatech projevuje celou řadou akutních, chronických a pozdních účinků. Jsou to zejména účinky: dermatotoxické a emetické. Způsobuje zánětlivá onemocnění gastrointestinálního traktu, leukopenie, degenerace kostní dřeně. Ze tkáně prasat je T-2 toxin rychle eliminován díky rozsáhlé metabolizaci. Do masa kuřat jeho metabolity pronikají rychleji [4; 8; 121].

U T-2 toxinu jsou popsány též účinky imunosupresivní (zvýšení náchylnosti k superinfekci), genotoxické a diskutují se i účinky karcinogenní. T-2 toxin zatím není klasifikován jako karcinogen pro člověka (dle IARC/WHO spadá do kategorie 3). Experimenty

na hlodavcích prokázaly poškození DNA, vznik chromozomálních aberací a schopnost iniciovat tvorbu karcinomu trávicího traktu [43; 58; 121].

T-2 toxin je původcem fatální mykotoxikózy, zvané alimentární toxické aleukie. Prvně byl dán tento toxin do souvislosti s ATA během druhé světové války v Rusku, kde v důsledku konzumace kontaminovaného chleba T-2 toxinem došlo k postižení až úmrtí řady lidí. Mezi příznaky onemocnění ATA, vzniklého po konzumaci zaplísňeného obilí/produktů ze zaplísňeného obilí patří například: leukopenie, agranulocytóza, nekrotická angína, hemoragická vyrážka, krvácení z nosu, horečka, gastrointestinální příznaky – nauzea, průjem, křeče, až smrt [59; 60].

T-2 toxin vykazuje vysokou dermální toxicitu. Velmi rychle penetruje kůží, způsobuje její zarudnutí, puchýře, popáleniny až nekrózu a jeho účinek je srovnatelný s účinky yperitu. Srovnatelně nebezpečná a toxická je inhalační expozice tomuto toxinu ve formě aerosolu, způsobuje poškození dýchacích cest. Nejrychleji však dochází k postižení očí. Dráždivě působí též na zažívací trakt. Pro tyto toxické účinky představuje T-2 toxin hrozbu z důvodu jeho možného zneužití v bioterorismu [11; 42; 74].

T-2 toxin pravděpodobně synergicky působí s DON. U lidí zatím nejsou dostatečná toxikologická data o biotransformaci T-2 toxinu [4].

Akutní expozice DON se zejména u prasat, ale i dalších zvířat (kuřata, skot) projevuje střevními potížemi a zvracením, dále hemoragiemí a kožními změnami. V roce 1987 postihlo v Kašmíru více než 50 000 osob gastrointestinální onemocnění nazvané akutní DON toxikóza. Také v Číně v roce 1980 došlo k tzv. otravě červenou plísní („red mold poisoning“). Obě mykotoxikózy mají spojitost s DON a trichotheceny [113; 124; 125; 126; 127; 128; 258].

DON vykazuje také imunosupresivní a teratogenní účinky [124; 125; 126; 128].

DON má silně synergické účinky s některými metabolity plísně *F. graminearum*, například se sambucinolem, či culmorinem [4; 124].

7 Analytické stanovení mykotoxinů

K analytickému stanovení mykotoxinů ve vzorcích potravinových a zemědělských komodit se v současné době využívá celá škála analytických a instrumentálních technik. Jedná se o techniky, jako jsou například: tenkovrstevná chromatografie (TLC, thin layer chromatography), plynová chromatografie (GC, gas chromatography), vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC, high performance liquid chromatography), kapalinová chromatografie sdružená s hmotnostním spektrometrem (LC/MS, liquid chromatography/mass spectrometry), enzymová imunoanalýza (ELISA, enzyme linked immunosorbent assay), a řadu dalších [4; 62; 64; 131; 133; 134; 135; 136].

Kompletní stanovení mykotoxinů sestává ze dvou základních postupů. Prvním postupem je tzv. preanalytická fáze a druhým potom vlastní analytické stanovení [4].

7.1 Preanalytická fáze – příprava vzorku pro analýzu

Preanalytická fáze sestává z těchto dílčích laboratorních operací: odběr a homogenizace vzorku, extrakce mykotoxinů, purifikace (přečištění) extraktu [4; 133].

7.1.1 Odběr vzorku

Správný odběr vzorku je pro úspěšné provedení analýzy stěžejní a řídí se několika legislativními předpisy [4].

Obecnějším předpisem je vyhláška Ministerstva zdravotnictví České republiky č. 339/2001 Sb., která pojednává o způsobu odběru a přípravy kontrolních vzorků za účelem zjišťování jakosti a zdravotní nezávadnosti potravin nebo surovin určených k jejich výrobě [4].

Konkrétně pak odběr vzorků pro stanovení mykotoxinů je určen nařízením komise EU č. 401/2006. Toto nařízení je doplněno směrnicí komise EU, č. 178/2010. Způsob odběru vzorku musí vždy respektovat skutečnost, že v mnoha případech je distribuce konkrétního mykotoxinu v potravinech nebo krmivu nerovnoměrné [4].

7.1.2 Homogenizace vzorku

Vzhledem k nerovnoměrnému výskytu mykotoxinů v substrátech je nutné odebraný vzorek řádně zhomogenizovat. Tato homogenizace se provádí pomocí homogenizátorů nebo různých mlýnků. Dalším následným krokem je většinou filtrace [4; 62; 137].

7.1.3 Extrakce mykotoxinů

Extrakce se provádí vhodným organickým rozpouštědlem, nejlépe v Erlenmayerových baňkách se zábrusem nebo uzavřené pomocí skleněné zátky. Tyto baňky se umístí na

laboratorní třepačku. Volba extrakčního rozpouštědla závisí na povaze a rozpustnosti stanovovaného mykotoxinu [62; 133].

K extrakci se zvláště používají následující rozpouštědla: methanol, octan ethylnatý, chloroform, aceton a acetonitril. V případě použití 50-80 % vodného roztoku methanolu se k němu ještě přidává chlorid sodný. Přídavkem NaCl může být extrakce dokonalejší. Z kyselého prostředí se extrahují do organických rozpouštědel mykotoxiny kyselé povahy, například citrinin, kyselina cyklopiazonová, ochratoxin A nebo zearalenon [4; 62; 133].

7.1.4 Přečištění extraktu

Většina rychlých metod pro stanovení mykotoxinů založených na imunochemických technikách a také technika LC-MS/MS (liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry, kapalinová chromatografie s návaznou analýzou tandemovou hmotnostní spektrometrií) se běžně obejdou bez předchozího kroku, přečištění extraktu. Ostatní výše zmiňované techniky se bez předchozího kroku přečištění extraktu v rámci preanalytické fáze neobejdou [62; 131; 137].

7.1.4.1 Technika extrakce z kapaliny do kapaliny (LLE, liquid-liquid extraction)

Zpočátku se k purifikaci extraktů používalo vytřepávání z kapaliny do kapaliny. Princip této techniky je založený na rozdílné rozpustnosti mykotoxinů ve dvou vzájemně zcela nemísitelných rozpouštědlech [4; 62; 137].

Tato metoda byla používána například v 70. nebo ještě v 80. letech minulého století. Je značně zdoluhavá a rovněž v průběhu tohoto postupu může docházet i ke značné ztrátě stanovovaných mykotoxinů [4; 62; 137].

7.1.4.2 Technika extrakce na pevnou fázi (SPE, solid phase extraction)

Pohodlnější a současně i rychlejší metoda je extrakce mykotoxinů na pevnou fázi. Tato metoda extrakce je založena na kontaktu mykotoxinů z extraktu se stacionární fází umístěnou v malých kolonkách. Na této fázi se přítomný mykotoxin zachytí. Jako sorbent pro kolonky se používá obyčejný silikagel nebo nejčastěji modifikovaný silikagel s navázanými řetězci fenylových skupin nebo řetězci s 18 atomy uhlíku. Také se používá křemičitan hořečnatý nebo určitý polymer, například styrendivynylbenzenová pryskyřice [4; 62; 132; 137].

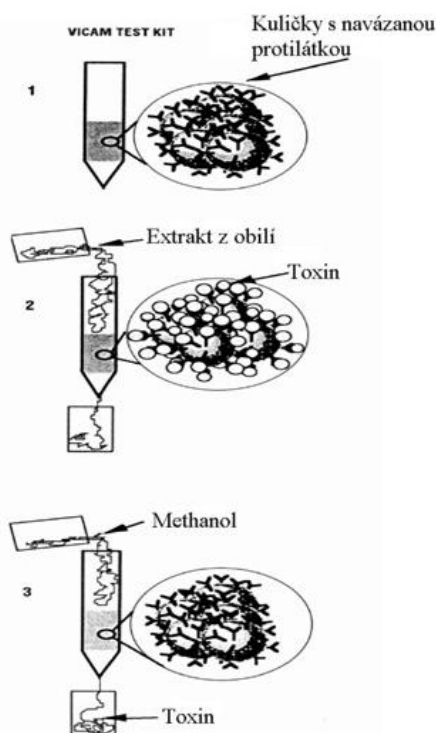
Pro eluci nečistot z extraktu z kolonky plněné sorbentem se používají rozpouštědla, jako je například: hexan, diethylether, dichlormethan. Po přečištění se mykotoxiny z kolonky eluují vhodným rozpouštědlem, jehož eluční účinnost je větší než adsorpční účinnost sorbentu. Při této metodě extrakce na tuhou fázi současně dochází i k výhodné koncentraci mykotoxinů. Použití kolonek SPE znamenalo podstatný pokrok, nicméně se na sorbentu mohou zachytit i jiné sloučeniny podobné struktury [4; 132].

7.1.4.3 Imunoafinitní chromatografie (IAC, immunoaffinity chromatography)

Nedostatky a úskalí ve výše zmíněné nespecifické sorpci látek strukturou podobných mykotoxinům pomohly vyřešit tzv. imunoafinitní kolonky. Tyto kolonky obsahují sorbent s navázanými protilátkami se specifitou k příslušným mykotoxinům [137].

Imunoafinitní metoda je založena na specifické a současně reverzibilní vazbě mykotoxinu (ve funkci antigenu) a příslušné protilátky. Tato vazba je pak rozrušena denaturací protilátky organickým rozpouštědlem, většinou methanolem (viz. Obr. 18). Imunoafinitní kolonky se v současné době používají k čištění extraktu nejčastěji, neboť kromě specifčnosti je u nich výhoda menší spotřeby organických rozpouštědel a také značná úspora času. V dnešní době je dostupná řada komerčních kitů s imunoafinitními kolonkami pro stanovení mykotoxinů jako je například aflatoxin, zearalenon, ochratoxin, fumonisin, atd. [4; 132; 133; 134; 137; 140].

Obr. 24: Schématický náčrt principu metody pro průkaz mykotoxinů v obilí pomocí komerčně dostupného kitu firmy Vicam (USA)



Zdroj: <https://www.extension.purdue.edu/extmedia/BP/BP-47.html> [140]

Legenda: 1. Kolonka je naplněna kuličkami (nosičem), na kterých jsou navázané protilátky se specifitou ke stanovovanému mykotoxinu. 2. Extrakt z obilí je nalit do kolonky, v případě, že v analyzovaném materiálu je přítomen stanovovaný mykotoxin, dochází ke specifické vazbě protilátky a antigenu (mykotoxinu). Kolonka je promývacím pufrem, dochází k vyplavování nenavázaných složek vzorku. 3. Navázaný mykotoxin je vyváznán ze specifické vazby s protilátkou promytím kolonky methanolem. Pro kvantifikaci mykotoxinu je eluát obsahující mykotoxiny derivatizován a detekován pomocí fluorometru.

7.1.4.4 Gelová permeační chromatografie (GPC, gel-permeation chromatography)

Na přečištění vzorků se může použít i gelová permeační chromatografie (GPC, také jenom gelová filtrace). Separace spočívá v tom, že velké molekuly sloučenin nejsou v kolonce zadržované a procházejí jejím vnitřkem, zatímco malé molekuly vstupují do pórů gelu, kde jsou zadrženy. Metoda GPC se používá zvláště k odstranění lipidických sloučenin nebo rostlinných a živočišných pigmentů. Používá se například pro stanovení patulinu nebo zearalenonu [4; 134].

7.2 Vlastní analytická fáze, metody stanovení mykotoxinů

Ke stanovení mykotoxinů se v současné době nejvíce používají chromatografické metody a metody hmotnostní spektrometrie [62; 132; 134; 137].

Také lze použít i imunochemické metody a to ke screeningovému stanovení vybraných mykotoxinů v potravinách i v krmivech [131; 133].

7.2.1 Chromatografické metody

Chromatografické metody představují separační techniky, při kterých nastává dělení složek mezi dvěma fázemi různé polaritě, z nichž jedna je pohyblivá, neboli mobilní a druhá nepohyblivá, neboli stacionární [4; 62; 63].

7.2.1.1 Chromatografie na tenké vrstvě (TLC, thin layer chromatography)

Na počátku stanovování mykotoxinů se poměrně hojně používala metoda chromatografie na tenké vrstvě [62; 133; 134; 138].

Sorbent (nejčastěji silikagel) je zde nanesený v tenké vrstvě na skleněnou nebo hliníkovou destičku. Na okraje těchto destiček se aplikují extrakty vzorků společně se standardy. Potom se destička ponoří uvedeným okrajem do rozpouštědla, které vzlíná ve vrstvě sorbentu a unáší s sebou i vzorek. Výhodnější je použití modifikované verze zvané dvourozměrná TLC. U tohoto postupu se vzorky nanášejí do rohu destičky se sorbentem a vyvíjejí ve dvou různých rozpouštědlech. Například destičky se v první dimenzi vyvíjejí v systému diethylether-methanol-voda a po vysušení se destičky otočí o 90 ° a vyvíjejí se v rozpouštědle chloroform-aceton [4; 62; 63].

Metoda chromatografie na tenké vrstvě (TLC) je rychlá, jednoduchá a finančně nenákladná. Uplatňuje se zejména jako orientační metoda ke kvalitativnímu nebo maximálně semikvantitativnímu vyšetření mykotoxinů (hodnocení pouhým okem). Densitometrická detekce skvrn umožňuje také kvantitativní hodnocení. Dnes se používá již velmi málo a to jen jako metoda orientační [62; 132; 134; 138].

Na základě klasické chromatografie na tenké vrstvě byla vyvinuta metoda vysokoúčinné tenkovrstevné chromatografie (HTLC, high-performance thin-layer chromatography). Její nespornou výhodou je použití menšího objemu vzorku [4; 132].

7.2.1.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC, high-performance liquid chromatography)

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie je hlavním analytickým nástrojem při detekci a kvantifikaci mykotoxinů a prakticky všechny známé mykotoxiny lze pomocí této instrumentace analyzovat [132].

Kapalinový chromatograf se skládá z komponent zajišťujících transport mobilní fáze, separaci složek a detekci separovaných složek s automatickým záznamem.

Na detekci mykotoxinů pomocí HPLC je možné použít několik typů detektorů. Nejčastěji se využívá UV detektor (HPLC/UV, high performance liquid chromatography/ultraviolet detection, vysokoúčinná kapalinová chromatografie s detekcí světelného toku z ultrafialové oblasti), neboť většina mykotoxinů absorbuje vlnové záření v oblasti UV spektra. Rovněž se často používá fluorescenční detektor, HPLC/FD (high performance liquid chromatography/fluorescence detection, vysokoúčinná kapalinová chromatografie s detekcí fluorescence), neboť mnohé mykotoxiny se vyznačují schopností absorbovat záření určité vlnové délky a potom po excitaci část energie emitovat ve formě záření s větší vlnovou délkou. Výhodou FD detektoru je vyšší citlivost (ve srovnání s UV detektorem) a zároveň je selektivnější. Jeho použití je do určité míry omezeno tím, že ne všechny mykotoxiny se vyznačují přirozenou fluorescencí [132; 133].

Avšak i při absenci nativní fluorescence je však přesto možné využít detektor FD s tím, že stanovovaný mykotoxin se podrobí tzv. derivatizaci, to znamená, že reaguje s vhodným činidlem a přemění se na produkt s novými fyzikálně chemickými vlastnostmi [4].

U HPLC lze také s výhodou použít hmotnostní detekci pomocí hmotnostního spektrometru. Podstatou hmotnostní detekce je separace iontů a fragmentů analyzované látky, jež vznikly ionizací molekul v magnetickém poli. Dráhy vytvořených iontů se v elektrickém a magnetickém poli zakřivují. Změnou intenzity elektrického a magnetického pole lze docílit rozvinutí hmotnostního spektra a získat tzv. hmotnostní spektrogram. Z polohy čar ve spektrogramu lze získat informaci o kvalitě, tzn. druhu mykotoxinu a z jejich výšek potom informace o množství mykotoxinu [4; 134].

Využití analytických přístupů, které využívají spojení HPLC s hmotnostní spektrometrií (HPLC-MS, HPLC-MS/MS) se v dnešní době těší velké pozornosti. Nespornou výhodou je

velmi nízký detekční limit a také skutečnost, že není třeba, jako je tomu například u plynové chromatografie, analyt derivatizovat [4; 137].

7.2.1.3 Plynová chromatografie (GC, gas chromatography)

GC pro detekci mykotoxinů našla uplatnění již v 70 tých letech minulého století. GC umožňuje kvalitativní a kvantitativní stanovení vzorků, které je možné převést v páry. Je možné analyzovat vzorky nejen v plynném stavu, ale i ve stavu kapalném nebo tuhém. Separace se může realizovat v soustavě plyn-kapalina (GLC, gas liquid chromatography, chromatografie plyn-kapalina) nebo v soustavě plyn-tuhá látka (GSC, gas solid chromatography, chromatografie plyn-tuhá látka). Mobilní fáze je vždy plynná (tzv. nosný plyn) a stacionární fázi je buď tuhý sorbent, nebo zakotvená kapalná fáze v chromatografické koloně. Derivatizovaný vzorek je nejčastěji analyzován pomocí GC v kombinaci s MS (GC-MS, gas chromatography/mass spectrometry) [4; 62; 63; 134; 137].

7.2.2 Imunoeseje (ELISA, enzymová imunoanalýza s vázaným enzymem; RIA, radioimunoanalýza; imunoafinitní kolonky)

Metoda ELISA a RIA patří spolu s imunoafinitními kolonkami mezi imunochemické metody. Tyto metody jsou tedy také založené na reakci antigenu s protilátkou. Buď antigen, nebo protilátka jsou označené a mohou být detekovány spektrofotometricky, v případě metod ELISA, nebo radiometricky, v případě metody RIA. Z naměřené absorbance/signálu záření se potom stanoví množství přítomného mykotoxinu ve zkoumaném substrátu [4; 133; 136; 137].

U metody nekompetitivní ELISA se označuje protilátka a měří se množství navázané značené protilátky. Když je označený antigen, potom se jedná o kompetitivní metodu ELISA a určuje se množství nenavázaného značeného antigenu, případně komplexu značeného antigenu s protilátkou [4; 133; 136].

Metoda ELISA je velmi citlivá, ale mohou se u ní vyskytnout tzv. zkřížené reakce („cross reactions“, stanovení podobných mykotoxinů). Z tohoto aspektu tyto imunochemické metody většinou nestanoví konkrétní mykotoxin, ale celou skupinu příbuzných mykotoxinů, například přítomné aflatoxiny nebo fumonisiny. Proto se výsledky těchto analýz považují pouze za semikvantitativní [131; 137].

Metoda ELISA je rychlá a umožňuje oddělit vzorky s negativním a pozitivním výskytem mykotoxinů. U vzorků s prokázaným obsahem mykotoxinů se potom ke konkrétní identifikaci použijí výše uvedené instrumentální metody [132; 133].

U metody RIA je antigen značený vhodným radioizotopem. Ke stanovení je nutné zařízení na měření radioaktivity. V dnešní době se tyto RIA metody téměř nepoužívají [4; 136].

7.2.3 Využití dalších metod pro stanovení mykotoxinů

V dnešní době dochází k rozvoji také dalších instrumentálních technik určených ke stanovení mykotoxinů, a to například kapilární elektroforézy (CE, capillary electrophoresis), elektrochromatografie (EC, electrochromatography), polymerázové řetězové reakce (PCR, polymerase chain reaction) nebo bioesejí (biosenzorů) [4; 133; 134; 135; 137; 139].

8 Postupy omezení výskytu plísní a mykotoxinů

Základním postupem k zabránění tvorby mykotoxinů je systematická prevence zaměřená na výskyt mikroskopických vláknitých hub jak v potravinách, tak i v krmivech. Při přípravě či výrobě potravin a krmiv se musí dodržovat předepsané technologické postupy. Současně v určitých intervalech je nutné provádět mikrobiologickou kontrolu pracovního a výrobního prostředí, rovněž kontrolu všech surovin vstupujících do výrobního procesu [65; 66; 68].

Eliminace nebo absence mykotoxinů vyžaduje jednak cílené provádění dezinfekce všech prostor, přístrojů a strojů přicházejících do přímého kontaktu s potravinami a krmivy při jejich výrobě [66].

8.1 Dekontaminace potravinových výrobků a krmiv

I při dodržování všech zásad prevence se v příslušných substrátech mohou mykotoxiny vyskytnout. V tomto případě je nutné potraviny nebo krmiva dekontaminovat. To znamená buď v nich přítomné mykotoxiny přímo degradovat (destruovat), nebo je alespoň detoxikovat, zbavit toxického působení [66; 142].

Dekontaminační postupy se rozdělují na tři základní skupiny: fyzikální, chemické a mikrobiologické. Někdy je účinné použít kombinace dvou nebo i tří kategorií uvedených metod [1; 4; 66; 67; 142].

Americká organizace FAO (The Food and Agriculture Organization) stanovila obecné požadavky na aplikaci dekontaminačních postupů.

- a) Dekontaminační postup musí buď inaktivovat (detoxikovat) přítomný mykotoxin nebo ho úplně eliminovat.
- b) Dekontaminace nesmí vytvářet nebo zanechávat toxická rezidua v konečných výrobcích, která by pak mohla mít karcinogenní nebo mutagenní účinek.
- c) Rovněž nemůže snižovat nutriční hodnotu dotyčného výrobku nebo změnit jeho technologické vlastnosti.
- d) Jedno z kritérií FAO rovněž vyžaduje, aby dekontaminační agens destruovalo spory nebo myceliová vlákna, které by za příznivých podmínek mohly opět vytvářet mykotoxiny [66].

8.1.1 Fyzikální postupy

Tyto postupy zejména zahrnují vaření, pečení a pražení. Také je možné použít efektu ozonu (ozonizace) nebo záření. Tyto metody většinou mohou v určených případech snižovat obsah

mykotoxinů v substrátech, ale nemusí dojít k jejich úplné inaktivaci nebo eliminaci [67; 65; 66; 67; 68].

8.1.2 Mikrobiologické postupy

V principu jsou uvedené metody založeny na mikrobiální biodegradaci a transformaci příslušných mykotoxinů (zejména AFB₁, ochratoxinu, trichothecenů i fumonisinů) mikrobiálními enzymy na metabolické produkty, jež jsou buď méně toxické, nebo netoxické. Zjistilo se, že bakterie *Flavobacterium aurantiacum* degraduje aflatoxin B₁ ve vybraných potravinách zahrnujících také mléko a maso a je účinná i při dekontaminaci hospodářských krmiv [66; 141; 142].

Také se prokázalo, že i některé další bakterie, například bakterie mléčného kvašení z rodu *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, druhy *Streptococcus thermophilus* a *Lactococcus lactis* mohou vázat aflatoxiny na povrch svých buněčných stěn. Používají se tedy jako adsorbenty mykotoxinů. Aplikace a účinnost uvedených mikrobiálních vyvazovačů v praxi je ještě stále ve stadiu výzkumů. Tyto bakterie mají výhodu již v tom, že jsou přirozenou součástí zažívacího traktu zvířat. Bylo potvrzeno, že kvasinky rodu *Kluyveromyces* potlačují klíčení spor aspergilů a současně i biosyntézu jejich aflatoxinů [66; 141; 142].

8.1.3 Chemické metody

Tyto postupy spočívají jednak v samotné aplikaci chemických sloučenin za účelem transformace mykotoxinů na netoxické produkty, jednak v aplikaci účinných aditiv do kontaminovaných krmiv za účelem snížit toxický efekt toxinů [142].

Jako chemické substance se zejména používají oxido-redukční činidla: peroxid vodíku, chlornan sodný, kyselina askorbová, hydroxid vápenatý, hydroxid amonný, oxid siřičitý a uhličitan amonný. Zde je nutné zdůraznit, že chemické metody se nepoužívají do potravin nebo krmiv určených k přímé spotřebě [66; 141; 142].

Do krmiv je možné přidávat různá aditiva vázající mykotoxiny a snižující toxický efekt mykotoxinů. Je známo, že například vyšší obsah vitamínu C nebo bisulfidů způsobuje detoxikaci patulinu, také že kurkumin má jistý protektivní účinek, snižující toxicitu AFB₁.

Také přidavek bentonitu, aktivního uhlí, silikátu nebo adsorbentů na bázi glukánů do krmiv vede k redukcí obsahu aflatoxinů. Avšak tyto substance neadsorbují fumonisin a zearalenon. Naopak mohou vázat užitečné vitamíny a minerální látky. Mnohé pokusy s přidavkem esterifikovaného glukomananu do krmiv ukázaly, že má schopnost vázat jak aflatoxiny, tak i současně fumonisin a zearalenon. Na druhé straně je potřeba jisté opatrnosti v použití těchto vyvazovačů, neboť bylo zjištěno, že mohou dokonce toxický efekt některých mykotoxinů naopak zvyšovat [142; 66].

Závěr

1. Výraznými a velmi důležitými producenty mykotoxinů jsou zvláště rody: *Aspergillus*, *Fusarium* a *Penicillium* a v jejich rámci potom celá řada konkrétních druhů.
2. Produkce mykotoxinů jednotlivými druhy vláknitých mikromycet není jejich absolutní vlastností, ale má potencionální charakter. To znamená závislost biosyntézy mykotoxinů na konkrétních podmínkách vnějšího prostředí (relativní vlhkost, teplota, pH, obsah kyslíku), ale současně i na vnitřních vlastnostech daného substrátu (např. suroviny, polotovaru nebo hotového finálního výrobku ve formě potraviny nebo krmiva), které zahrnují zejména jeho chemické složení, konzistenci a interní pH.
3. V daném substrátu se mohou vyskytnout dva i více druhů mikromycetů, jenž současně syntetizují rozdílné mykotoxiny a vylučují je do okolního prostředí. Po konzumaci potraviny nebo krmiva se mohou v daném organismu projevit různé vzájemné vztahy produkovaných mykotoxinů. V podstatě může nastat buď jejich synergický účinek, nebo účinek antagonistický. Při synergickém působení se jejich účinek zesiluje a naopak při antagonistickém působení zase zeslabuje.
4. Jeden a týž daný mykotoxin může současně vykazovat v mnoha případech několikeré nepříznivé či patogenní účinky na organismus člověka nebo zvířete. Například u aflatoxinů obecně lze prokázat negativní účinek na krevní systém, imunitní systém, játra, ale dokonce i efekt mutagenní.
5. Mnohé mykotoxiny jsou velmi odolné k faktorům vnějšího prostředí, zejména k teplotě. Vyšší teploty sice mohou zabít mikromycety, ale jejich mykotoxiny ještě stále zůstávají patogenně aktivní a nebezpečné pro organismus.
6. Vlákňité mikromycety se mohou projevovat dvěma rozdílnými druhy negativních účinků: patologickým působením zahrnujícím vlastní mykotická onemocnění a také onemocnění alergická a potom vlastní produkcí mykotoxinů. V určitých případech mohou vykazovat konkrétní mikromycety oba zmíněné účinky.
7. Techniky analytického stanovení mykotoxinů se stále vyvíjely. Metoda tenkovrstevné chromatografie se v současné době používá pouze jako screeningové či předběžné vyšetření. Těžištěm stanovení je aplikace instrumentálních analytických metod, zvláště vysokoúčinné kapalinové chromatografie a plynové chromatografie.
8. Velmi důležitá je inaktivace či destrukce mykotoxinů v konkrétních substrátech, která se může realizovat fyzikálními, chemickými a mikrobiologickými metodami.

Seznam literatury

Tištěné knihy, monografie a časopisy

- [1] LACIAKOVÁ, A. a kol. *Mikroskopické vláknité huby a mykotoxiny v potravinách a krmivách*. Košice: Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie, 2011. ISBN 978-80-8077-252-9.
- [2] JESENSKÁ, Z. *Mikroskopické huby v požívatinách a krmivách*. Bratislava: Alfa, 1987. 320 s. Edícia potravinárskej literatury
- [3] FASSATIOVÁ, O. *Plísňe a vláknité houby v technické mikrobiologii*. Příručka k určování. Praha: SNTL, 1979, 240 s. Řada potravinářské literatury.
- [4] MALÍŘ, F., V. OSTRÝ a kol. *Vláknité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka*. Brno: NCO NZO, 2003. 349 s. ISBN 80-7013-395-3
- [5] CAST. *Mycotoxins-risks in plant, animal and human systems*. Council for Agricultural Science and Technology, Ames (USA): Task Force Report, 2003, no. 139. ISBN 1-887383-22-0
- [6] DOLEŽÁLEK, J. *Mikrobiologie mlékárenského tukařského průmyslu*. Praha: SNTL, 1962. 548 s.
- [7] OSTRÝ, V. *Vláknité mikroskopické houby (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka*. Praha: SZÚ, 1998. 20 s. ISBN 80-7071-102-7
- [8] BETINA, V. *Mykotoxíny, Chémia-biológia-ekológia*. Bratislava: Alfa, 1990. 288 s. ISBN 80-05-00631-4
- [9] MALÍŘ, F., T. ROUBAL, J. SEVERA, B. ŘIČAŘOVÁ, E. ROLEČKOVÁ, H. MAREŠOVÁ. Některé toxikologicky významné mykotoxiny a možné zdravotní riziko. *Sborník přednášek z XVI. celostátního semináře o separační chemii a analýze toxických látek v Lázních Bohdaneč 20. - 22. 6. 2005*. Institut ochrany obyvatelstva. Informační zpravodaj. Lázně Bohdaneč: 2005, 16(1). s. 75-78
- [10] OSTRÝ, V. Mikromycety, mykotoxiny a zdraví člověka. *Časopis Lékařů Českých*, 1999, s. 515-52. ISSN 0008-7335
- [11] MALÍŘ, F. a kol. *Mykotoxiny a bioterorismus*. Informační zpravodaj MV-GŘ HZS ČR. 2003, 14(1). s. 35-44
- [12] HEWITT, H. G. (ed.). *Fungicides in Crop Protection*. Oxford: CAB International, 1998, 221 pp. ISBN 0851992013

- [13] ANKE, T. (ed.). *Fungal Biotechnology*. London: Chapman and Hall, 1991. 409 pp. ISBN 3-8261-0090-5
- [14] BENEŠ, Jiří a kol. 2009. *Infekční lékařství*. Galén, Praha. 651 s. ISBN 978-80-7262-644-1
- [15] KAVANAGH, K. (ed.). *Fungi. Biology and Applications*. Chichester: Wiley and Sons, 2005. 267 pp. ISBN 0-470-86702-7
- [16] AGRIOS, G. N. (ed.). *Plant Pathology*. 4th ed. San Diego: Academic Press, 1997. 635 pp. ISBN 0-12-482850-7
- [17] MCGINNIS, M. R. *Laboratory Handbook of Medical Mycology*. Academic Press, London: Academic Press, 1980. 661pp. ISBN 0-12-482850-7
- [18] PITT, J. I., A. D. HOCKING. *Fungi and food spoilage*. 2nd ed. London: Blackie, 1997. ISBN 0-412-55460-7
- [19] FRAGNER, P. *Malá lékařská mykologie*. Praha: Avicenum, 1984. 194 s. ISBN 08-004-84
- [20] ALEXOPOULOS, C. J. and C. W. MIMS. *Introductory mycology*. 3. ed. New York: Wiley & Sons, 1979. 632 pp. ISBN 978-047152229404
- [21] ŠPIČÁK, V. a P. PANZNER. *Alergologie*. Praha: Galén, 2004. 348 s. ISBN 807262265X
- [22] KYZLINK, V. *Teoretické základy konzervace potravin*. Praha: SNTL, 1988. 512 s.
- [23] MIHINOVÁ, D. a E. PIECKOVÁ. 2011. Sekundárne metabolity mikromycet, mykotoxiny a ich biologické účinky. *Lekársky Obzor*, 2011, 60 s. 40-45. ISSN 0457-4214
- [24] BENNETT, J. W. Mycotoxins, mycotoxicoses, mycotoxicology and mycopathology. *Mycopathologia*, 1987, 100. pp. 3-5. ISSN 0301-484
- [25] BENJAMIN, C. R. Ascocarp of *Aspergillus* and *Penicillium*. *Mycologia*. 1955, 47. p. 669-687. ISSN 0027-5514
- [26] RAPER, K. B and D. FENNELL. *The genus Aspergillus*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1965.
- [27] THOM, C., RAPER, K. B. *A Manual of the Aspergilli*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1945.
- [28] FRÁGNER, P. *Mykologie pro lékaře*. Praha: SZN, 1967. 345 s.
- [29] VÁŇA, J. *Systém a vývoj hub a houbových organismů*. Praha: Karolinum, 1996. 164 s. ISBN 80-7184-175-7

- [30] FASSATIOVÁ, O. *Moulds and filamentous fungi in technical mikrobiology*. Amsterdam: Elsevier, 1986. 211pp. Progress in Industrial Microbiology, vol. 22. ISBN 0-444-99559-5
- [31] DYR, J. *Kvasná chemie a technologie*, Praha: SNTL, 1965. 364 s.
- [32] TOMŠÍKOVÁ, A., V. ZAVÁZAL, V. MALÝ, D. NOVÁČKOVÁ, H. NOVÁ. Účast mykotické flóry při vzniku respiračních alergóz. *Časopis Lékařů Českých*. 1966, 104, s. 425-433. ISSN 0008-7335
- [33] BURGESS, L. W., C. M. LIDDEL, B. A. SUMMERELL. *Laboratory manual for Fusarium research*. 2nd edition. University of Sydney: 1988. 156 pp.
- [34] LESLIE, J. F. and B. A. SUMMERELL. *The Fusarium Laboratory Manual*. Iowa: Blackwell Publishing , 2006. 388 pp. ISBN 0-8138-1919-9
- [35] GERLACH, W. and H. NIRENBERG. *The genus Fusarium – a pictorial atlas*. Berlin: Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land und Forstwirtschaft, 1982. 406 pp.
- [36] ČAČA, Z. *Zemědělská fytopatologie*. Praha: SZN, 1980. 344s
- [37] BEYER, M., S. ROEDING, A. LUDEWIG and J. A. VERREET. Germination and survival of *Fusarium graminearum* macroconidia as affected by environmental factors. *Journal of Phytopathology*, 2004, 152. pp. 92-97. ISSN 0931-1785
- [38] RAPER, K. B. and C. THOM. *A manual of Penicillia*. Baltimore: The Williams and Wilkins, 1949. 875 pp.
- [39] RAMIREZ, C. *Manual and atlas of the Penicillia*. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 1982. 874 pp.
- [40] KLABAN, V. *Ekologie mikroorganismů*. Ilustrovaný lexikon biologie, ekologie a patogenity mikroorganismů. Praha: Galén, 2011. 549 s. ISBN 978-80-7262-770-7
- [41] FASSATIOVÁ, O. Contribution to the Morphology of the Productive Strains of *Penicillium chrysogenum* Thom from the Wisconsin Family. *Folia Microbiologica*. 1970, 15. p. 358-363. ISSN 0015-5632
- [42] PATOČKA, J. *Vojenská toxikologie*. Praha: Grada. 2004. 178 s. ISBN 80-247-0608
- [43] IARC. *Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humus*. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Lyon (France): 1993, 56. 599p. ISBN 9283212568
- [44] CULLEN, J. M. and P. N. NEWBERNE. 1994. Acute hepatotoxicity of aflatoxins. In EATON D. L. and J. J. Groopman (ed.). *The toxicity of aflatoxins. Human health*,

- veterinary, and agricultural significance*. San Diego: Academic Press, 1994. pp. 3-26. ISBN 0-12-228255-8
- [45] BRESSAC, B., M. KEW, J. WANDS, and M. OZTURK. Selective G to T mutations of p53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa. *Nature*. 1991, 350, pp. 429-431. ISSN 0028-0836
- [46] IARC. *Monographs on the evaluation of the carcinogenic risks to humans*. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naftalen and styren. Lyon, (France): 2002, 82. 601pp. ISBN 9283212827
- [47] DVOŘÁČKOVÁ, I. *Aflatoxins and human health*. Boca Raton (Florida): RCC Press, 1990. 154pp. ISBN 0849346282
- [48] CIEGLER, A., D. J. FENNELL, H. J. MINTZLAFF and L. LEISTNER. Ochratoxin synthesis by *Penicillium* species. *Naturwissenschaften*. 1972, 59. pp. 365-366. ISSN 0028-1042
- [49] RUPRICH, Jiří. *Mykotoxin Ochratoxin A: hodnocení nebezpečnosti a zdravotního rizika*. Acta hygienica, epidemiologica et mikrobiologica. Praha: SZÚ, 1997, příl. č. 5. 141s. ISSN 0862-5956
- [50] BEARDALL, J. M. and J. D. MILLER. Disease in humans with mycotoxins as possible causes. In MILLER, J. D. and H. L. TRENHOLM (ed.). *Mycotoxins in grains. Compounds other than aflatoxin*. St. Paul and Minn: Eagan Press, 1994, 552 pp. ISBN 978-0-9624407-5-5
- [51] HULT, K., R. PIESTINA, V. HABAZIN - NOVAK, B. RADIC and S. CEOVIC. Ochratoxin A in human blood and Balkan endemic nephropathy. *Archives of Toxicology*. 1982, 51, pp. 313. ISSN 0340-5761
- [52] PFOHL-LESZKOWICZ, A., T. PETKOVA- BOCHAROVA, I. N. CHERNOZEMSKY, M. CASTEGNARO. Balkan endemic nephropathy and associated urinary tract tumours: a review on etiological causes and the potential role of mycotoxins. *Food Additives and Contaminants*. 2002, 19, pp. 282–302 ISSN 1944-0049
- [53] LEA, T., K. STEINEN, K. and F. C. STORMER. Mechanism of ochratoxin A- induces immunosuppression. *Mycopathology*, 1989, 107, pp. 153-159. ISSN 0301-484X
- [54] MARASAS, W. F. O., J. D. MILLER, R. T. RILEY and A. VISCONTI. Fumonisin- occurrence, toxicology, metabolism and risk assessment. In SUMMERELL, B. A., J. F. LESLIE, D. BACKHOUSE, W. L. BRYDEN and L. W. BURGESS (ed.). *Fusarium:*

- Paul E. Nelson Memorial Symposium*. St. Paul and Minn: APS Press, 2001. 408 pp. ISBN 978-0-89054-268-2
- [55] HAGLER, W. M., Jr., N. R. TOWERS, C. J. MIROCHA, R. M. EPPLEY and W. L. BRYDEN. Zearalenone: mycotoxin or mycoestrogen?. In SUMMERELL, B. A., J. F. LESLIE, D. BACKHOUSE, W. L. BRYDEN and L. W. BURGESS (ed.). *Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium*. St. Paul and Minn: APS Press, 2001. 408 pp. ISBN 978-0-89054-268-2
- [56] KURTZ, H. J. and J. MIROCHA. Zearalenone (F2) induced estrogenic syndrome in swine. In WYLLIE, T. D. and L. G. MOREHOUSE(ed.). *Mycotoxic fungi, mycotoxins, mycotoxicoses: An Encyclopedic Handbook*. Vol. 2.: Mycotoxicoses of domestic and laboratory animals, poultry, and aquatic invertebrates and vertebrates. New York (USA): Marcel Dekker, 1978, 570 pp. ISBN 0-8247-6551-6
- [57] MARIN, S., A. J. RAMOS, G. SANO – SANCHO and V. SANDIS. Mycotoxins: Occurrence, toxicology and exposure assessment. Review. *Food and Chemical Toxicology*. Elsevier, 2013, 60, pp. 218-237. ISSN 0278-6915
- [58] CHU, F. S. Mycotoxins-occurrence and toxic effect. In M. SADLER, J. J. STRAIN and B. CABALLERO (ed.). *Encyclopedia of human nutrition*. New York (USA): Academic Press, 1998. ISBN 978-0-12-226694
- [59] JOFFE, A. Z. *Fusarium species: their biology and toxicology*. New York: Wiley and Sons, 1986. 588 pp. ISBN 978-0471827320
- [60] MARASAS, W. F. O., P. E. NELSON and T. A. TOUSSOUN. *Toxigenic Fusarium species. Identification and mycotoxicology*. University Park (PA): The Pennsylvania State University Press, 1984, 320 pp. ISBN 978-0-271-00348-1
- [61] MILLER, J. D., J. W. APSIMON, B. A. BLACKWELL, R. GREENHALGH and A. TAYLOR. Deoxynivalenol: a 25 year perspective on a trichothecene of agricultural importance. In SUMMERELL, B. A., J. F. LESLIE, D. BACKHOUSE, W. L. BRYDEN and L. W. BURGESS (ed.). *Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium*. St. Paul and Minn: APS Press, 2001, 408 pp. ISBN 978-0-89054-268-2
- [62] BETINA V. (ed). *Chromatography of mycotoxins*. Techniques and Applications. Elsevier, Amsterdam-London-New York-Tokyo, 1993. pp. 440. ISBN 978-0-444-81521-7
- [63] CHURÁČEK, J. a kol. *Analytická separace látek*. SNTL, Praha, 1990. 384 s. ISBN 80-03-00569-8

- [64] COKER, R. *Aflatoxins and mycotoxins: chromatography*. Encyclopedia of separation science. San Diego (CA): Academic Press, 2000. pp. 1873–88. Převzato z RAHMANI et al, 2009.
- [65] OSTRÝ, V., J. RUPRICH a M. ŮBERHUBEROVÁ. *Metodický návod pro dekontaminaci a rozklad vybraných mykotoxinů v laboratořích*. Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica. Praha: SZÚ, 1997, příl. 5, 87 s. ISSN 0862-5956
- [66] PAŘÍKOVÁ, J. a kol. *Metodický postup dezinfekce mikroskopických hub v pracovním a životním prostředí člověka*. Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica. Praha: SZÚ, 1999, příl. 2, 13 s. ISSN 0862-5956
- [67] MELICHERČÍKOVÁ, V. *Sterilizace a dezinfekce ve zdravotnictví*. Praha: Grada, 1998. 102 s. ISBN 80-7169-442-8
- [68] PAŘÍKOVÁ, J. *Jak likvidovat plísň*. Praha: Grada Publishing, 2001. 86 s. Profi & Hobby. ISBN 80-247-9029-7

Články online

- [69] BENNETT, J. W. Mycotechnology: the role of fungi in biotechnology. *Journal of biotechnology*. [online]. Elsevier:1998, 66, pp. 101-107. [citováno 2014-07-30]. ISSN 0168-1656. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168165698001333> Abstrakt databáze PubMed
- [70] KALHOTKA, L. *Vláknité mikromycety, plísň*. pdf. [online]. [citováno 2014-07-10]. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty/files/21/21-plisne.pdf
- [71] DUKE, S., O. and F., E. Dayan. Modes of action of microbially- produced phytotoxins. Review. *Toxins*. [online]. 2011, 8(3), pp. 1038-1064. [citováno 2014-07-30]. ISSN 2072-6651. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2072-6651/3/8>
- [72] NEDĚLNÍK, J., H. MORAVCOVÁ a A. HONZLOVÁ. *Mykotoxiny v krmivech*. Pdf. [online]. [citováno 2013-06-13]. Dostupné z: http://www.vupt.cz/content/files/pub_06/nedel_06_01.pdf
- [73] OSTRÝ, V. Mikroskopické vláknité houby. Účinky mykotoxinů na lidské zdraví. *Vesmír*. Duben 2000, 79. [online]. [citováno 2013-07-10]. ISSN 1214-4029. Dostupné z: www.cts.cuni.cz/vesmir
- [74] VACKOVÁ, M., M. ŠPLIŇO a J. SMETANA. T-2 toxin a jeho možné zneužití. [online]. *Vojenské zdravotnické listy*. roč. LXXIV. 2005, č. 2, s. 60-62. [citováno 2014-05-15].

ISSN 0372-7025. Dostupné z: http://www.pmfhk.cz/VZL/VZL%202_2005/3%20Vackov%20E1-W.pdf

- [75] ŠEGVIĆ, M. Adverse effects of combined mycotoxins. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*. [online]. December 2012, 63(4), pp. 519-530. [citováno 2013-11-11]. ISSN 1848-6312. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23334048>
- [76] RICHARD, J., L. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses-An overview. *International Journal of Food Microbiology*. [online]. 20 October 2007, 119(1-2), p. 3-10. [citováno 2013-03-18]. ISSN 168-1605. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.is.cuni.cz/science/article/pii/S0168160507003790>
- [77] RICHARD, J. L. Mycotoxins and human disease. In: E. J. ANAÏSSIE, M. R. MCGINNIS, M. A. PFALLER(Eds.). *Clinical Mycology*. New York: Churchill Livingstone, 2003, pp. 589-598.
- [78] KEW, M. C. Aflatoxins as a Cause of Hepatocellular Carcinoma. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*. [online]. September 2013, 22(3), pp. 305-310. [citováno 2014-03-20]. ISSN 1842-1121. Dostupné z: <http://www.jgld.ro/2013/3/13.html>
- [79] BENNETT, J. W. and M. KLICH. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*. [online]. July 2003, 16(3), pp. 497-516. [citováno: 2013-03-20]. ISSN 1098-6618. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12857779>
- [80] PETERSON, S. W., Y. ITO, B. W. HORN and T. GOTO. *Aspergillus bombycis*, a new aflatoxigenic species and genetic variation in its sibling species *A. nomius*. *Mycologia*. [online]. 2001, 93(4), pp. 689-703. [citováno: 2014-04-20]. ISSN 1557-2536. Dostupné z: <http://www.cybertruffle.org.uk/cyberliber/59350/0093/004/0689.htm>
- [81] KLICH, M. A., E. J. MULLANEY, C. B. DALY, and J. W. CARY. Molecular and physiological aspects of aflatoxin and sterigmatocystin biosynthesis by *A. tamarii* and *A. ochraceoroseus*. *Applied and Microbiology and Biotechnology*. [online]. 2000, 53 (5), pp. 605-609. [citováno 2014-04-20]. ISSN 1432-0614. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.is.cuni.cz/science/article/pii/S0168160507003790>
- [82] SCAGLIONI, P. T et al. Aflatoxin B1 and M1 in milk. *Analytica Chimica Acta*. [online]. 2014, 829(4), pp. 68-74. [citováno 2014-03-25]. ISSN 0003-2670. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267014004905#>
Abstrakt databáze PubMed
- [83] WILD, C. P. and P. C. TURNER. The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions. *Mutagenesis*. [online]. 2002, 17(6), pp. 471-481. [citováno 2014-03-25]. ISSN 1464-3804. Dostupné z: <http://mutage.oxfordjournals.org/content/17/6/471.full#ref-43>

- [84] ROLL, R., G. MATTHIASCHK and A. KORTE. Embryotoxicity and mutagenity of mycotoxins. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology*. [online]. Jan-Apr 1990, 10(1-2), p. 1-7. [citováno 2014-03-25]. ISSN 2162-6537. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2121956> Abstrakt databáze PubMed
- [85] NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *PubChem Compound. Aflatoxin B1*. [online]. [citováno: 2014-07-08]. Dostupné z: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=186907#itabs-2d>
- [86] NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *PubChem Compound. Aflatoxin B1*. [online]. [citováno: 2014-07-08]. Dostupné z: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?q=nama&cid=186907>
- [87] NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *PubChem Compound. Aflatoxin G1*. [online]. [citováno: 2014-07-08]. Dostupné z: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=14421&loc=ec_rcs#x27
- [88] NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *PubChem Compound. Aflatoxin M1*. [online]. [citováno: 2014-07-08]. Dostupné z: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=15558498&loc=ec_rcs#x27
- [89] NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *Puchem Compound. Aflatoxin Ro*. [online]. [citováno: 2014-08-10]. Dostupné z: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?sid=135060462&loc=es_rss
- [90] MALÍŘ, F. a V. OSTRÝ. *Informace Vědeckého výboru pro potraviny ve věci: Ochratoxin A v potravinách*. [online]. Vědecký výbor pro potraviny. Brno, 2007. [citováno: 2013-07-12]. Dostupné z: http://czvp.szu.cz/vedvybor/dokumenty/informace/Info_2006_14_OTa_deklas.pdf
- [91] KRIFATON, C. S., J. KUKOLYA, S. SZOBOSZLAY, M. CSERHÁTI, Á. SZŰCS and B. KRISZ. Szent István University, Regional Center of Excellence, Hungary , Szent István University, Environmental Protection and Environmental Safety, Hungary, Agruniver Holding Ltd., Hungary. *Adaptation of bacterial biotests for monitoring mycotoxins*. [online]. [citováno 2014-07-18]. Dostupné z: <http://www.mycostop.eu/Krifaton.pdf>
- [92] BAYMAN, P., J. L. BAKER, M. A. DOSTER, T. J. MICHAILIDES and N. E. MAHONEY. Ochratoxin production by the *Aspergillus ochraceus* group and *Aspergillus alliaceus*. *Applied and Environmental Microbiology*. [online]. 2002, 68(5), pp. 2326-2329. [citováno 2014-07-12]. ISSN 1098-5336. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC127519/>

- [93] ABARCA M. L., M. R. BRAGULAT, G. SASTELLA and F. J. CABANES. Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. *Applied and Environmental Microbiology*. [online]. July 1994, 60(7), pp. 2650-2652. [citováno 2014-07-12]. ISSN 1098-5336. Dostupné z:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC201698/pdf/aem00024-0454.pdf>
- [94] RINGOT, D., A. CHANGO, Y. J. SCHNEIDER, Y. LARONDELLE. Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update. *Chemico-Biological Interactions*. [online]. January 2006, 159(1), pp. 18-46. [citováno: 2014-07-03]. ISSN 0009-2797. Dostupné z:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16293235> Abstrakt databáze PubMed
- [95] MEISNER, H. and P. MEISNER. Ochratoxin A, an inhibitor of renal phosphoenolpyruvate carboxylase. *Archives of Biochemistry Biophysics*. [online]. 1981, 208. pp. 146-151. [citováno: 2014-07-03]. ISSN 1096-0384. Dostupné z:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003986181901338> Abstrakt database PubMed
- [96] NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *PubChem Compound. Ochratoxin A*. [online]. [citováno: 2014-07-03]. Dostupné z:
http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=442530&loc=ec_res
- [97] STOYEV, S. D. and S. A. DONER. Porcine/chicken or human nephropathy as the result of joint mycotoxins interaction. *Toxins (Basel)*. [online]. September 2013, 5 (9), pp. 1503-1530. [citováno: 2014-07-20]. ISSN 2072-6651. Dostupné z:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3798870/>
- [98] HAYES, A. W, T. D. PHILLIPS, W. L. WILLIAMS and A. CIEGLER. Acute toxicity of patulin in mice and rats. *Toxicology*. [online]. Elsevier, 1979, 13(2), pp. 91-100. [citováno: 2014-07-25]. ISSN 0300-483X
<http://naldc.nal.usda.gov/naldc/download.xhtml?id=25289&content=PDF>
- [99] SMITH, E. E., E. A. DUFFUS and M. H. SMALL. Effects of patulin on postimplantation rat embryos. *Archives of environmental contamination and toxicology*. [online]. Springer, 1993, 25, pp. 267-270. [citováno: 2014-07-21]. ISSN 1432-0703. Dostupné z:
<http://link.springer.com/article/10.1007/BF00212140#page-1>
- [100] FERNÁNDEZ-CRUZ, M. L., M. L. MANSILLA and J. L. TADEO. Mycotoxins in fruits and their processed products: Analysis, occurrence and health implications. Review. *Journal of advanced research*. April 2010, 1 (2), pp. 113-122. [online]. [citováno: 2014-07-21]. ISSN 2090-1232. Dostupné z:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090123210000330>

- [101] PUEL, O., P. GALTIER and I. P. OSWALD. Biosynthesis and toxicological effect of patulin. [online]. *Toxins (Basel)*. April 2010; 2 (4), pp. 316-631. [citováno: 2014-03-20]. ISSN 2072-6651. Dostupné z:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3153204/#!po=51.1364>
- [102] NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM. U. S. Department of Health and Human Services. *CAS Registry Number: 149-29-1 Toxicity Effects*. [online]. [citováno: 2014-07-15]. Dostupné z: <http://ntp.niehs.nih.gov/testing/status/chemid/hsdb-149-29-1.html>
- [103] FERMENTEK biotechnology. *Patulin*. [online]. [citováno: 2014-07-18]. Dostupné z: <http://www.fermentek.co.il/patulin.htm>
- [104] NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *PubChem Compound. Patulin*. [online]. [citováno: 2014-05-06]. Dostupné z: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=4696&loc=ec_rcs
- [105] DUTTON, M. F. Fumonisin, mycotoxins of increasing importance: their nature and their effects. *Pharmacology and Therapeutics*. [online]. 1996, 70, pp. 137-161. [citováno 2013-05-11]. ISSN 0163-7258. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8843466> Abstrakt databáze PubMed
- [106] GELDERBLOM, W. C. A., K. JASKIEWICZ, W. F. O. MARASAS, P. G. THIEL, R. M. HORAK, R. VLEGGAR and N. P. J. KRIEK. Fumonisin - novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Applied and Environmental Microbiology*. [online]. 1988, 54, pp. 1806-1811. [citováno 2013-07-11]. ISSN 1098-5336. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC202749/pdf/aem00112-0172.pdf>
- [107] GELDERBLOM, W. C. A., K. JASKIEWICZ, W. F. O. MARASAS and P. G. THIEL. Toxicity and carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* metabolite, fumonisin B1 in rats. *Carcinogenesis*. [online]. 1991, 12 (7), pp. 1247-1251. [citováno 2013-07-13]. ISSN 0143-3334. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1649015> Abstrakt databáze PubMed
- [108] GELDERBLOM, W. C. A., C. M. SMUTS, S. ABEL, S. D. SNYMAN, M. E. CAWOOD, L. van der WESTHUIZEN and S. SWANEVELDER. Effect of fumonisin B1 on protein and lipid synthesis in primary rat hepatocytes. *Food and Chemical Toxicology*. [online]. 1996, 34 (4), pp. 361-369. [citováno 2013-07-13]. ISSN 0278-6915. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/027869159600107X> Abstrakt databáze PubMed

- [109] RHEEDER, J. P., W. F. MARASAS and H. F. VISMER. Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology*. [online]. 2002, 68 (5), pp. 2102-2105. [citováno 2013-08-12]. ISSN 1098-5336. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC127586/>
- [110] MARASAS, W. F., T. S. KELLERMAN, W. C. GELDERBLOM, J. A. COETZER, P. G. Thiel and J. J. van der Lugt. Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1, isolated from *Fusarium moniliforme*. *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. [online]. December 1988, 55 (4), pp. 197-203. [citováno 2013-05-15]. ISSN 2219-0635. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3217091> Abstrakt databáze PubMed
- [111] HARRISON, L. R., B. M. COLVIN, J. T. GREENE, L. E. NEWMAN and J. R. COLE, Jr. Pulmonary edema and hydrothorax in swine produced by fumonisin B1 a toxic metabolite of *F usarium moniliforme*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. [online]. 1990, 2, pp. 217-221. [citováno 2013-08-17]. ISSN 1943-4936. Dostupné z: <http://vdi.sagepub.com/content/2/3/217.long>
- [112] LESLIE, J. F. *Mycotoxins: Detection Methods, Management, Public Health and Agricultural Trade*. [online]. Wallingford: CABI Publishing, 2008. pp. 31-32 of 496. [citováno 2014-03-20]. ISBN 978-1-84593-082-0. Dostupné z: <http://site.ebrary.com/lib/cuni/docDetail.action?docID=10231470>
- [113] MORGAVI, D. P. and R. T. RILEY. An historical overview of field disease outbreaks known or suspected to be caused by consumption of Leeds contaminated with *Fusarium* toxins. *Animal Feed Science and Technology*. [online]. October, 2007, 137 (3-4)3-4, pp. 201-216. [citováno 2014-01-17]. ISSN 0377-8401. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.is.cuni.cz/science/article/pii/S0377840107002167#>
- [114] MERRILL, A. H. Jr, M. C. SULLARDS, E. WANG, K. A. VOSS and R. T. RILEY. Sphingolipid metabolism: roles in signal transduction and disruption by fumonisins. *Environmental Health Perspectives*. [online]. 2001, 109 (2), pp. 283-289. [citováno 2013-06-06]. ISSN 0091-6765. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1240677/> Abstrakt databáze PubMed
- [115] NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *PubChem Compound. Fumonisin B1*. [online]. [citováno: 2014-07-18]. Dostupné z: http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=3431&loc=ec_rcs
- [116] ZINEDINE, A., J. M. SORIANO, J. C. MOLTÓ and J. MANES. Review on toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulation and intake of zearalenon: An oestrogenic mycotoxin. *Food and Chemical toxicology*. [online]. Elsevier, January 2007,

- 45 (1), pp. 1-18. [citováno 2014-01-15]. ISSN 0278-6915. Dostupné z:
<http://www.sciencedirect.com/science/journal/02786915/45/1>
- [117] MIROCHA, C. J., C. M. CHRISTENSEN and G. H. NELSON. Physiologic activity of some fungal estrogens produced by *Fusarium*. *Cancer Research*. [online]. 1968, 28, pp. 2319-2322. [citováno 2014-01-19]. ISSN 1538-7445. Dostupné z:
<http://cancerres.aacrjournals.org/content/28/11/2319.full.pdf+html>
- [118] SÁENZ de RODRÍGUEZ et al. An epidemic of precocious development in Puerto Rican children. *The Journal of Pediatrics*. [online]. Elsevier, 1985, 107 (33), pp. 393-396. [citováno 2014-01-19]. ISSN 1867-0687. Dostupné z:
<http://www.jpeds.com/article/S0022-3476%2885%2980513-8/abstract> Abstrakt databáze PubMed
- [119] MINERVINI, F., A. GIANNOCCARO, A. CAVALLINI, A. VISCONTI. Investigations on cellular proliferation induced by zearalenone and its derivatives in relation to the estrogenic parameters. *Toxicology Letters*. [online]. 2005, 159, pp. 272-283. [citováno 2014-02-20]. ISSN 0378-4274. Dostupné z:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15994033> Abstrakt databáze PubMed
- [120] NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *PubChem Compound. Zearalenone*. [online]. [citováno: 2014-07-10]. Dostupné z:
http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=5281576&loc=ec_rcs
- [121] UENO, Y. Mode of action of trichothecenes. *Pure and Applied Chemistry*. [online]. 1977, 49(11), pp. 1737-1745. [citováno 2014-05-15]. ISSN 1365-3075. Dostupné z:
http://www.iupac.org/publications/pac/results/?search_text=mode+of+action+of+trichothecenes&simple=true
- [122] STAFFORD M. E. and C. S. McLAUGHLIN. Trichodermin, a possible inhibitor of the termination process of protein synthesis. *Journal of Cellular Physiology*. [online]. 1973, 82 (1), pp. 121-128. [citováno 2014-05-15]. ISSN 1097-4652. Dostupné z:
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcp.1040820114/abstract>
- [123] WEI, C. M., I. M. CAMPBELL, C. S. McLAUGHLIN and M. H. VAUGHN. Binding of trichodermin to mammalian ribosomes and its inhibition by other 12, 13-epoxytrichothecenes. *Molecular and Cellular Biochemistry*. [online]. 1974, 3, pp. 215-219. [citováno 2014-05-15]. ISSN 1573-4919. Dostupné z:
<http://www.researchgate.net/publication/226898869> Abstrakt databáze PubMed
- [124] ROTTER, B. A., D. B. PRELUSKY and J. J. PESTKA. Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B*. [online]. 1996, 48,

- pp. 1-34. [citováno 2014-05-15]. ISSN 1521-6950. Dostupné z:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8637056> Abstrakt databaze PubMed
- [125] SOBROVÁ, P., V. ADAM, A. VASATKOVÁ, M. BEKLOVÁ, L. ZEMAN, R. KIZEK. Deoxynivalenol and its toxicity. *Interdisciplinary Toxicology*. 2010, 3(3), pp. 94-99 pp. [citováno 2014-05-15]. ISSN 1337-6853. Dostupné z:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2984136/>
- [126] PESTKA, J. J. Deoxynivalenol: Toxicity, mechanisms and animal health risks. *Animal Feed Science and Technology*. [online]. October 2007, 137(3-4). [citováno 2014-04-17]. ISSN 0377-8401. Dostupné z:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377840107002209>
- [127] PESTKA, J. J. and T. SMOLINSKI. Deoxynivalenol: Toxicology and potential effects on humans. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B, Critical Review*. [online]. 2005, 8 (1). [citováno 2014-05-12]. ISSN 1521-6950. Dostupné z:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15762554> Abstrakt databáze PubMed
- [128] PESTKA, J. J. Deoxynivalenol: mechanisms of action, human exposure and toxicological relevance. *Archives of Toxicology*. [online]. 2010, 84, pp. 663-679. [citováno 2014-03-11]. ISSN 1432-0738. Dostupné z:
<http://en.liferainbow.com.tw/ktmllite/files/uploads/DON%20mechanism%20andtoxicity.pdf>
- [129] NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *PubChem Compound. Deoxynivalenol*. [online]. [citováno: 2014-07-01]. Dostupné z:
http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=40024&loc=ec_rcs
- [130] NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. *PubChem Compound. T-2 Toxin*. [online]. [citováno: 2014-07-15]. Dostupné z:
http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=6711181&loc=ec_rcs
- [131] KRALJ-CIGIĆ, I. and H. PROSEN. An Overview of Conventional and Emerging Analytical Methods for the Determination of Mycotoxins. *International Journal of Molecular Sciences*. [online]. 2009, 10 (1), pp. 62-115. [citováno 2014-03-20]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2662450/>
- [132] TURNER, N., W., S. A. SUBRAHMANYAM and S. A. PILETSKY. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Analytical Chimica Acta*. [online]. January 2009, 632(2), p. 168-180. [citováno 2014-03-20]. ISSN 0003-2670. Dostupné z:
<http://www.sciencedirect.com.ezproxy.is.cuni.cz/science/article/pii/S0003267008019193>
- [133] LESLIE, J. F. *Mycotoxins: Detection Methods, Management, Public Health and Agricultural Trade*. [online]. Wallingford: CAB International, 2008. pp. 171-181 of 496.

- [citováno 2014-03-20]. Dostupné z:
<http://site.ebrary.com/lib/cuni/docDetail.action?docID=10231470>
- [134] ROMERO- GONZÁLES, R., J. L. MARTÍNEZ – VIDAL and A. GARRIDO. *Food Science and Technology. Chromatography for the Determination of Mycotoxins in food*. [online]. New York (USA): Nova Science Publishers, 2010. 75 pp. [citováno: 2014-03-10]. eISBN 978161728442. Dostupné z:
http://sfx.is.cuni.cz/sfxlcl3/azbook/ukall?param_perform_value=ebook&use=rem_j
- [135] POHANKA, M., D. JUN, K. KUČA. Mycotoxin Assays Using Biosensor Technology: A Review. *Drug and Chemical Toxicology*. 2007, 30, pp. 253–261. [citováno 2014-03-10]. ISSN 1525-6014. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17613010> Abstrakt databáze PubMed
- [136] PESTKA, J. J., ABOUZIED, M. N. and SUTIKNO. *Immunological assays for mycotoxin detection*. *Food Technology*, 1995, 49(2), pp. 120-128. [citováno 2014-03-28]. Dostupné z: <http://www.doiserbia.nb.rs/img/doi/0352-4906/2009/0352-49060917015P.pdf>
- [137] RAHMANI, A., S. JINAP and F. SOLEIMANY. *Qualitative and quantitative analysis of mycotoxins*. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. [online]. © Institute of Food Technologies®, 2009, 8 (3). [citováno: 2014-03-15]. Dostupné z:
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1541-4337.2009.00079.x/full>
- [138] LIN, L. et al. Thin layer chromatography of mycotoxins and comparison with other chromatographic methods. Review. *Journal of Chromatography*. [online]. Elsevier, 31 July 1998, 815 (1), pp. 3-20. [citováno 2014-03-10]. ISSN 0021-9673. Dostupné z:
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967398002040> Abstrakt databáze PubMed
- [139] ARDUINI, F. I. ERRICO, A. AMINE, L. MICHELI, G. PALLESCHI and D. MOSCONE. Enzymatic spectrophotometric method for aflatoxin B detection based on acetylcholinesterase inhibition. *Analytical Chemistry*. [online]. May 2007, 79 (9), pp. 3409–3415. [citováno 2014-03-10]. ISSN 1520-6882. Dostupné z:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17408242> Abstrakt databáze PubMed
- [140] WOŁOSHUK, CH. P. *Mycotoxins and Mycotoxins Tests Kits*. Purdue University. West Lafayette. Department of Botany and Plant Pathology. [citováno 2014-03-10]. Dostupné z: <https://www.extension.purdue.edu/extmedia/BP/BP-47.html>
- [141] PARK, D. L., L. S. LEE and A. E. POHLAND. Review of the decontamination of aflatoxins by ammoniation: current status and regulativ. *Journal of the Association of*

Official Analytical Chemists. [online]. Jul-Aug 1988, 71(4), pp. 685-703. [citováno 2014-02-10]. ISSN 0004-5756 . Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3047098>

- [142] RADA, V. a J. HAVLÍK. *Transformace mykotoxinů střevními mikroorganismy*. [online]. Vědecký výbor výživy zvířat. Výzkumný ústav živočišné výroby. Praha. Listopad 2012, 68 s. [citováno 2014-07-10]. Dostupné z: <http://www.vuzv.cz/sites/File/vybor/Mykotoxiny%20studie%202012.pdf>

Zkratky a symboly

AAI-toxin	<u>A</u> lternaria <u>a</u> lternata <u>l</u> ycopersici <u>t</u> oxin, toxin produkovaný mikromycetou rodu <i>Alternaria</i>
AIDS	<u>A</u> cquired <u>I</u> mmunode <u>f</u> iciency <u>S</u> ndrome, syndrom získaného selhání imunity
AFB₁	<u>a</u> flatoxin <u>B</u> 1
AFG₁	<u>a</u> flatoxin <u>G</u> 1
AFM₁	<u>a</u> flatoxin <u>M</u> 1
AFR₀	aflatoxikol
AFD₁	<u>a</u> flatoxin <u>D</u> 1
AFD₂	<u>a</u> flatoxin <u>D</u> 2
AFG_{2a}	<u>a</u> flatoxin <u>G</u> _{2A}
ATA	<u>a</u> limentary <u>t</u> oxic <u>a</u> leukia, alimentární toxická aleukie
a_w	<u>w</u> ater <u>a</u> ctivity, vodní aktivita; vyjadřuje dostupnou využitelnost vody pro mikroorganismy. Udává se ve formě desetinného čísla v rozmezí 0 až 1,0.
(α)²⁵_D	Specifická optická otáčivost látek (α) při určité vlnové délce (λ), (λ zpravidla udávaná pro čáru sodíkového dubletu (D) $\lambda = 589,3$ nm, a při určité teplotě (25 °C). Úhel, o který se otočí rovina polarizovaného světla při jednotkové tloušťce (l) = 1 dm a jednotkové koncentraci (c) = 1 g/ml.
BEN	<u>b</u> alkan <u>e</u> ndemic <u>n</u> ephropathy, balkánská endemická nefropatie
CDA	<u>C</u> zapek- <u>D</u> ox <u>a</u> gar, Czapek-Doxův agar
CE	<u>c</u> apillary <u>e</u> lectrophoresis, kapilární elektroforéza
CYA	<u>C</u> zapek <u>y</u> east extract <u>a</u> gar, Czapkův agar s kvasničným extraktem
DNA	<u>d</u> eoxyribo <u>n</u> ucleic <u>a</u> cid, deoxyribonukleová kyselina
DON	<u>d</u> eoxynivalenol
EC	<u>e</u> lectro <u>c</u> hromatography, elektrochromatografie
ELISA	<u>e</u> nzyme <u>l</u> inked <u>i</u> mmunosorbent <u>a</u> ssay, enzymová imunoanalýza s vázaným enzymem
EU	<u>E</u> uropean <u>U</u> nion, Evropská unie
FAO	<u>F</u> ood and <u>a</u> griculture <u>o</u> rganization, Organizace pro výživu a zemědělství

FD	<u>fluorescence detection</u> , fluorescenční detekce
GC	<u>gas chromatography</u> , plynová chromatografie
GC-MS	<u>gas chromatography/mass spectrometry</u> , plynová chromatografie sdružená s hmotnostním spektrometrem
GLC	<u>gas liquid chromatography</u> , chromatografie v soustavě plyn-kapalina
GPC	<u>gel – permeation chromatography</u> , gelová permeační chromatografie
GSC	<u>gas solid chromatography</u> , chromatografie v soustavě plyn-tuhá látka
HPLC	<u>high performance liquid chromatography</u> , vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HPLC/FD	<u>high performance liquid chromatography/fluorescence detection</u> , vysokoúčinná kapalinová chromatografie s fluorescenčním detektorem
HPLC/MS	<u>high performance liquid chromatography/mass spectrometry</u> , vysokoúčinná kapalinová chromatografie spojená s hmotnostní spektrometrií
HPLC/UV	<u>high performance liquid chromatography/ultraviolet detection</u> , vysokoúčinná chromatografie s detekcí světelného toku z ultrafialové oblasti
HTLC	<u>high-performance thin-layer chromatography</u> , vysokoúčinná tenkovrstevná chromatografie
IAC	<u>immunoaffinity chromatography</u> , imunoafinitní chromatografie
IARC/WHO	<u>International agency for research on cancer/World health organization</u> , Mezinárodní organizace pro výzkum rakoviny pod záštitou Světové zdravotnické organizace
IL-1	<u>interleukin-1</u>
IL-2	<u>interleukin-2</u>
LC/MS	<u>liquid chromatography/mass spectrometry</u> , kapalinová chromatografie sdružená s hmotnostním spektrometrem
LC-MS/MS	<u>liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry</u> , kapalinová chromatografie s návaznou analýzou tandemovou hmotnostní spektrometrií
LLE	<u>liquid-liquid extraction</u> , technika extrakce z kapaliny do kapaliny
MEA	<u>malt extract agar</u> , agar se sladovým extraktem
OTA	<u>ochratoxin A</u>

PCR	polymerase chain reaction, polymerázová řetězová reakce
PGA	potato glucose agar, bramboroglukozový agar
RIA	radioimmunoassay, radioimunoesej
RNA	ribonucleic acid, ribonukleová kyselina
SPE	solid phase extraction, extrakce na pevnou fázi
SÚJCHBO	Státní ústav pro jadernou, chemickou a biologickou ochranu
TLC	thin layer chromatography, tenkovrstevná chromatografie
UV	ultraviolet, ultrafialový
ZEA	zearalenon