

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BRNO 2015

NATÁLIE BARTOŇKOVÁ

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav výživy zvířat a pícninářství



**Vliv mykotoxinů na zdravotní bezpečnost píce a
následnou kontaminaci živočišných produktů**
Bakalářská práce

Vedoucí práce:
doc. Ing. Jiří Skládanka, Ph.D.

Vypracovala:
Natálie Bartoňková

Brno 2015

ZADÁNÍ

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Vliv mykotoxinů na zdravotní bezpečnost píce a následnou kontaminaci živočišných produktů vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příloženém seznamu literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

V Brně dne

.....

podpis

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala panu doc. Ing. Jiřímu Skládankovi, Ph.D. za odborné vedení, za pomoc a cenné rady při zpracování této bakalářské práce.

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce je literární rešerší na téma „Vliv mykotoxinů na zdravotní bezpečnost píce a následnou kontaminaci živočišných produktů“. První část je zaměřena na charakteristiku vláknitých mikroskopických hub a jejich významné zástupce. Mezi významné zástupce patří rody *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* a *Alternaria*. Další část popisuje sekundární metabolity plísní - mykotoxiny, zejména aflatoxiny, patulin, ochratoxin, zearalenon, trichotheceny a fumonisiny, které jsou obsažené hlavně v potravinách. Dále se tato práce zabývá mykotoxiny v krmivech a potravinách, v této části jsou popsány onemocnění a také možný přechod mykotoxinů do živočišných produktů, zejména přechod aflatoxinů do mléka. V závěru jsou popsány metody detekce, prevence a dekontaminace mykotoxinů. Dekontaminace se provádí fyzikálními, chemickými nebo biologickými metodami.

Klíčová slova: vláknité mikromycety, mykotoxiny, mykotoxikózy, potraviny

ABSTRACT

This bachelor thesis is a literary research on the topic of “The influence of mycotoxins on the health safety of fodder and on the following contamination of animal products”. The first part focuses on the characteristic of microscopic fibrous fungi and their significant representatives. Among significant representatives belong genera *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* and *Alternaria*. The next section describes secondary metabolites of fungi - mycotoxins, particularly aflatoxins, patulin, ochratoxin, zearalenone, trichothecenes and fumonisins, which are contained mainly in foods. Then, this thesis deals with the mycotoxins that appear in animal feeds and human foods, in this section there are described some diseases and also possible transition of mycotoxins into animal products, particularly transition of aflatoxins into the milk . In conclusion, there are described the methods of detection, prevention and decontamination of mycotoxins. The decontamination is carried out by physical, chemical or biological methods.

Key words: microscopic micromycetes, mycotoxins, mycotoxicosis, foods

OBSAH

1 ÚVOD.....	8
2 CÍL.....	9
3 VLÁKNITÉ MIKROSKOPICKÉ HOUBY	10
3.1 Charakteristika významných vláknitých mikromycetů	12
3.1.1 Třída <i>Zygomycetes</i>	12
3.1.1.1 Rod <i>Mucor</i> P. Micheli: Fr.....	12
3.1.1.2 Rod <i>Rhizopus</i> Ehrenb.....	13
3.1.2 Třída <i>Deuteromycetes</i>	14
3.1.2.1 Rod <i>Penicillium</i> Link.....	15
3.1.2.2 Rod <i>Aspergillus</i> P. Micheli ex Link.....	18
3.1.2.3 Rod <i>Cladosporium</i> Link	20
3.1.2.4 Rod <i>Fusarium</i> Link.....	21
3.1.2.5 Rod <i>Alternaria</i> Nees	22
4 MYKOTOXINY	24
4.1 Charakteristika mykotoxinů.....	24
4.2 Charakteristika významných mykotoxinů	25
4.2.1 Aflatoxiny	25
4.2.2 Patulin	26
4.2.3 Ochratoxiny	27
4.2.4 Zearalenon	28
4.2.5 Trichoheceny	29
4.2.5.1 Deoxynivalenol (DON).....	30
4.2.5.2 T-2 toxin	30
4.2.6 Fumonisinů	31
4.3 Faktory ovlivňující produkci mykotoxinů v potravinách	32
4.3.1 Vlhkost.....	32
4.3.2 Teplota	33
4.3.3 Kyselost prostředí	33
4.3.4 Přítomnost kyslíku	33
4.3.5 Hmyz.....	33
4.3.6 Substrát	34

4.3.7 Chemické faktory.....	34
5 MYKOTOXINY V KRMIVECH A POTRAVINÁCH	35
5.1 Vliv plísní a mykotoxinů na zdraví zvířat a lidí	36
5.1.1 Mykózy	37
5.1.2 Mykoalergózy	37
5.1.3 Mykotoxikózy	38
5.1.3.1 Ergotismus	39
5.1.3.2 Aflatoxikóza.....	39
5.1.3.3 Reyův syndrom	39
5.1.3.4 Onemocnění ze žluté rýže, kardiální beri-beri.....	39
5.1.3.5 Ochratoxikóza.....	40
5.1.3.6 Alimentární toxická aleukie.....	40
5.2 Přechod mykotoxinů z krmiv do živočišných produktů	40
5.3 Metody detekce mykotoxinů	41
5.3.1 Imunochemické metody.....	42
5.3.2 Chromatografické metody	42
5.4 Metody prevence výskytu mykotoxinů.....	42
5.5 Metody dekontaminace mykotoxinů	43
5.5.1 Fyzikální metody	43
5.5.1.1 Mechanické třídění	43
5.5.1.2 Inaktivace teplem.....	44
5.5.1.3 Extrakce rozpouštědly.....	44
5.5.1.4 Adsorpce	44
5.5.1.5 Ozařování.....	44
5.5.2 Chemické metody	45
5.5.3 Biologické metody.....	45
6 ZÁVĚR.....	46
7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	47
8 SEZNAM OBRÁZKŮ.....	52
9 SEZNAM TABULEK	53

1 ÚVOD

Vláknité mikroskopické houby neboli plísně jsou součástí přírody spousty let. Fosilní pozůstatky se datují do období před 460 miliony let. Jsou všudypřítomné po celém světě v ovzduší, půdě, vodě a na řadě dalších míst. Vyskytují se všude tam, kde existuje organická hmota. Jsou využívány k produkci nejrůznějších druhů potravin, organických látek nebo antibiotik. Na druhou stranu mají plísně negativní dopad na člověka. Způsobují alergie, otravy a mohou znehodnocovat potraviny mykotoxiny.

Mykotoxiny jsou toxické sekundární metabolity plísní a jejich tvorba závisí na mnoha faktorech jako například teplota, vlhkost, typ substrátu nebo kyselost prostředí. Nejvýznamnějšími rody plísní produkující mykotoxiny jsou *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Claviceps* a *Penicillium*. Ty mohou kontaminovat krmiva a potraviny a způsobují i různá onemocnění, která se nazývají mykotoxikózy. Do těl zvířat se mykotoxiny dostávají ze zaplísněného krmiva, do potravního řetězce pak mohou vstupovat skrz maso, mléko nebo vejce. Nejčastěji zjišťovaným mykotoxinem v živočišných produktech je aflatoxin.

2 CÍL

Cílem této bakalářské práce je:

- charakterizovat plísně a sekundární metabolity plísní,
- zaměřit se na výskyt mykotoxinů v krmivech a následný přechod do živočišných produktů,
- popsat vliv plísní a mykotoxinů na zdraví zvířat a lidí,
- možnosti dekontaminace mykotoxinů.

3 VLÁKNITÉ MIKROSKOPICKÉ HOUBY

Jako plísně označujeme mikroskopické vláknité eukaryotní mikroorganismy náležící mezi houby (Šilhánková, 2008). Základní stavební jednotkou stélky vláknitých mikromycet je vlákno hyfy (Kalhotka, 2014). Vlákna plísní jsou buď jednobuněčná, tj. nerozdělená přepážkami (u třídy *Zygomycetes*) nebo vícebuněčná, tj. septovaná. Přepážky (septa) mají ve svém středu póry (otvory), jimiž může volně procházet protoplazma, ale i orgány plísní, včetně jader z jedné buňky do druhé (Cempírková et al., 1997). Hyfy se opakovaně větví a vytváří značně složitou spleť vláken, která se nazývá mycelium neboli podhoubí (Paříková, 2001). Na specializovaných hyfách zvaných sporofory se tvoří spóry (výtrusy), které slouží k rozmnožování a šíření hub. Podle původu se spóry dělí na pohlavní – meiospóry a nepohlavní – mitospóry, podle místa vzniku na exospóry a endospóry. Při kultivaci hub na pevných půdách (agarech) lze po určité době rozeznat narůstající masu houby – kolonii (Malíř a Ostrý, 2003).

Plísně jsou chemoheterotrofní organismy. Znamená to, že jejich metabolismus je uzpůsoben k získávání energie a převážné části stavebního materiálu z látek organického původu. Nemají žádný specializovaný aparát nebo strukturu k přijímání živin, jsou osmotrofní a životně důležité látky přijímají ze svého okolí absorbcí. Většina hub je striktně aerobní, resp. roste pouze v aerobním prostředí (Malíř a Ostrý, 2003). Vzhledem k aerobní povaze se mohou rozmnožovat většinou pouze na povrchu napadeného materiálu (Šilhánková, 2008). Jedná se v převážné většině o saprotrofické organismy, které plní v ekosystémech nenahraditelnou roli destruentů a podílí se tak významně na koloběhu látek a energie v přírodě. Jen nepatrná část hub se přizpůsobila k parazitismu jiných organismů, včetně člověka (Malíř a Ostrý, 2003).

Velká morfologická a fyziologická rozmanitost a adaptabilita mikromycetů k nejrůznějším ekologickým podmínkám umožňuje jejich výskyt prakticky všude tam, kde existuje organická hmota. To jim umožňuje osídlit řadu rozdílných biotopů. Spóry mikromycetů jsou jednobuněčné nebo vícebuněčné výtrusy sloužící k jejich rozmnožování, šíření a přežívání v nepříznivých podmínkách. V případě mnoha patogenních hub hrají spóry rovněž významnou úlohu v patogenezí mykotických onemocnění (mykózy, mykotoxikózy, mykoalergie), (Malíř a Ostrý, 2003).

Plísně obecně mohou růst (tab. 1) na substrátech v širokém rozmezí hodnot vodní aktivity (a_w) 0,60 až 0,99 (Paříková, 2001). Plísně přednostně napadají povrch džemů, marmelád, chleba i různého pečiva, případně i navlhle suroviny, jako mouku, skladované obilí, mák, sóju, arašíd, atd. (Šilhánková, 2008). Optimální relativní vlhkost vzduchu pro růst plísní je od 80 % výše. Některým druhům postačuje relativní vlhkost již kolem 65 % (Paříková, 2001).

Optimální teplota, při které plísně rostou, se pohybuje kolem 25 °C, optimální rozmezí je 18 až 28 °C. Mohou však žít v intervalu teplot 0 až 60 °C (Paříková, 2001). Plísně, které rostou za velmi nízkých teplot, způsobují ztráty při dlouhodobém skladování potravin a jejich surovin i za chladu (např. masa, másla, vajec). Uplatňují se zde hlavně proteolytické a lipolytické účinky plísní (Šilhánková, 2008).

Optimální hodnota pH prostředí se u plísní pohybuje v rozmezí mírně kyselém až neutrálním pH (5 až 7), přesto se mohou některé druhy plísní rozmnožovat v širokém intervalu hodnot pH (1,2 až 11), (Paříková, 2001). Schopnost rozmnožovat se i za velmi nízkého pH umožňuje plísním uplatnit se i tam, kde většina bakterií již není schopna metabolismu (např. na kyselém ovoci, ovocných šťávách, džemech), (Šilhánková, 2008).

Pozitivní význam mají plísně (kromě průmyslové produkce enzymů) jako producenti antibiotik a organických kyselin (Šilhánková, 2008). V životním a pracovním prostředí člověka jsou přítomny v ovzduší, půdě, vodě, na povrchu živých a odumřelých organismů, předmětů, na plochách, v krmivu a potravinách (Malíř a Ostrý, 2003).

Tab. 1: Jednoduché shrnutí základních podmínek života plísní (Paříková, 2001)

Vlhkost	Optimální vlhkost materiálu $a_w = 0,80$ až $0,90$, optimální vlhkost vzduchu 80 až 100 %, některým druhům postačuje již vlhkost vzduchu 60 %
Teplota	Optimální 18 až 28 °C, mohou žít v rozmezí teplot 0 až 60 °C v závislosti na druhu plísní
Živiny	C a N různého původu (bílkoviny, cukry aj.), minerální látky
Světlo	Není nutné
Hodnota pH	Prostředí mírně kyselé, až neutrální, optimální hodnota je cca pH 5 až 7 v závislosti na druhu plísní
Kyslík	K životu potřebují

Taxonomické členění hub (Paříková, 2001, Ambrožová, 2004):

Říše *Fungi* – houby

- oddělení: *Myxomycota* (hlenky),
- oddělení: *Chytridiomycota*,
- oddělení: *Hypochytridiomycota*,
- oddělení: *Oomycota* (řasohouby),
- oddělení: *Eumycota*,
 - třída: houby spájkivé *Zygomycetes*,
 - třída: *Trichomycetes*,
 - třída: *Endomycetes*,
 - třída: houby vřeckaté *Ascomycetes*,
 - třída: houby stopkovýtrusé *Basidiomycetes*,
 - pomocná třída: houby nedokonalé *Deuteromycetes* (Mitosporické houby – *Fungi imperfecti*).

3.1 Charakteristika významných vláknitých mikromycetů

3.1.1 Třída *Zygomycetes*

Do třídy *Zygomycetes*, jež patří mezi *Zygomycotina* a jsou charakterizována jednobuněčným, tj. nepřehrádkovým myceliem a pohlavním rozmnožováním s tvorbou tzv. zygospor, nepohlavní rozmnožování se děje endosporami (Šilhánková, 2008). Endospory vznikají ve vakovitém útvaru zvané sporangium (výtrusnice) a proto se nazývají sporangiospory (Cempírková et al., 1997). Sporangia jsou většinou kulovitá nebo hruškovitá, vytvářejí se obvykle na koncích speciálních hyf, sporangioforů. Po rozpadu stěny sporangia zůstává na bázi sporangia tzv. límeček (Kalina a Váňa, 2005). Je zastoupena saprofytickými houbami se složitě vytvořeným myceliem (mladé mycelium bez přehrádek, zráním mycelia se tvoří příčné přehrádky), (Ambrožová, 2004). Významně se podílí na tvorbě humusu a půdy (Kalhotka, 2014).

3.1.1.1 Rod *Mucor* P. Micheli: Fr.

Většina druhů rodu *Mucor* roste velmi rychle na agarových půdách při pokojové teplotě a za 2 až 3 dny vyplní celou Petriho misku vzdušným myceliem. Některé druhy jsou schopné růst a slabě fermentovat za anaerobních podmínek a příležitostně způsobují

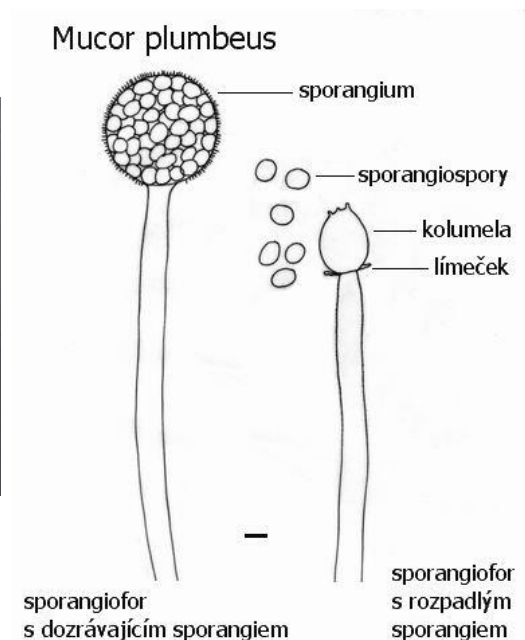
kažení nápojů (Tančinová, 2012). Sporangiofory, které vyrůstají ze substrátu jednotlivě, jsou nevětvené nebo větvené, mnohosporová sporangia obsahují velký počet spor (Kalina a Váňa, 2005).

***Mucor plumbeus* Bonord.**

Kolonie *Mucor plumbeus* (obr. 1) jsou rychle rostoucí, světle šedé, spodní strana je nezbarvena. Roste a sporuluje při 5 až 20 °C (Kubátová, 2001), neroste při teplotě 37 °C (max. při 30 °C), (Tančinová, 2012). Sporangiofory *Mucor plumbeus* (obr. 2) se tvoří na povrchu substrátu nebo ze vzdušných hyf. Tento druh má celosvětové rozšíření, např. půda, seno, hnůj, skladované zrna pšenice, ovesa, potraviny a je to častý vzdušný kontaminant (Tančinová, 2012). Neprodukuje žádné mykotoxiny (Kubátová, 2001).



Obr. 1: Kolonie *Mucor plumbeus*
(Kubátová, 2001)



Obr. 2: *Mucor plumbeus* (Kubátová, 2001)

3.1.1.2 Rod *Rhizopus* Ehrenb.

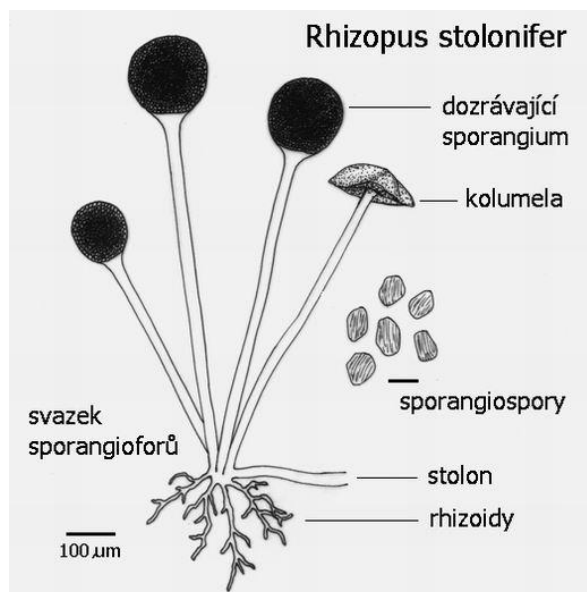
Rod *Rhizopus* je charakterizován stolony a svazečky sporangioforů vyrůstajících proti rhizoidům. Většina druhů je schopna zkvašovat cukry, a osidluje proto substráty obsahující cukry (Kalina a Váňa, 2005). Sporangiofory rostou samostatně nebo ve skupinách, obvykle jsou nevětvené. Sporangia jsou mnohosporová, obvykle velká, z počátku bělavá, později tmavohnědá. Kolumela je hnědá. Chlamydozspory tvoří jen některé druhy (Tančinová, 2012).

***Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Lind.**

Kolonie *Rhizopus stolonifer* (obr. 3) jsou rychle rostoucí, se světlým vyšším myceliem a drobnými černými sporangii. Spodní strana je nezbarvena. Optimum růstu je 25 až 26 °C (Kubátová, 2001). Sporangiofory *Rhizopus stolonifer* (obr. 4) jsou 1,5 až 3 mm vysoké, vyrůstají samostatně nebo ve skupinkách po 2 až 7 (Tančinová, 2012). Je to houba s kosmopolitním výskytem, hojnější v teplejších oblastech. Častý je zvláště na potravinách nebo v krmivech, způsobuje též hnilobu ovoce (Kubátová, 2001).



Obr. 3: Kolonie *Rhizopus stolonifer* (Kubátová, 2001)



Obr. 4: *Rhizopus stolonifer* (Kubátová, 2001)

3.1.2 Třída Deuteromycetes

Do této třídy řadíme houby, u kterých nepoznáme jejich pohlavní vývojové stádium - teleomorfu. Hlavním kritériem při klasifikaci je třídění podle tvorby konidií (Tančinová, 2012). Pomocná skupina *Deuteromycota* je členěna na tzv. pomocné třídy, řády, čeledi a rody pouze na základně morfologické podobnosti nepohlavního rozmnožování, nikoli podle vývojového systému (Kalina a Váňa, 2005).

Členíme je do 4 pomocných tříd *Blastomycetes* (patří sem asporogenní kvasinkové mikroorganismy např. *Cryptococcus*, *Rhodotorula*), *Hyphomycetes* (patří sem anamorfy askomycet např. *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*), *Coelomycetes* (patří sem např. fytopatogenní rody *Phoma* a *Septoria*) a *Agonomycetes* (patří sem fytopatogenní houby *Rhizoctonia solani*), (Kalhotka, 2014).

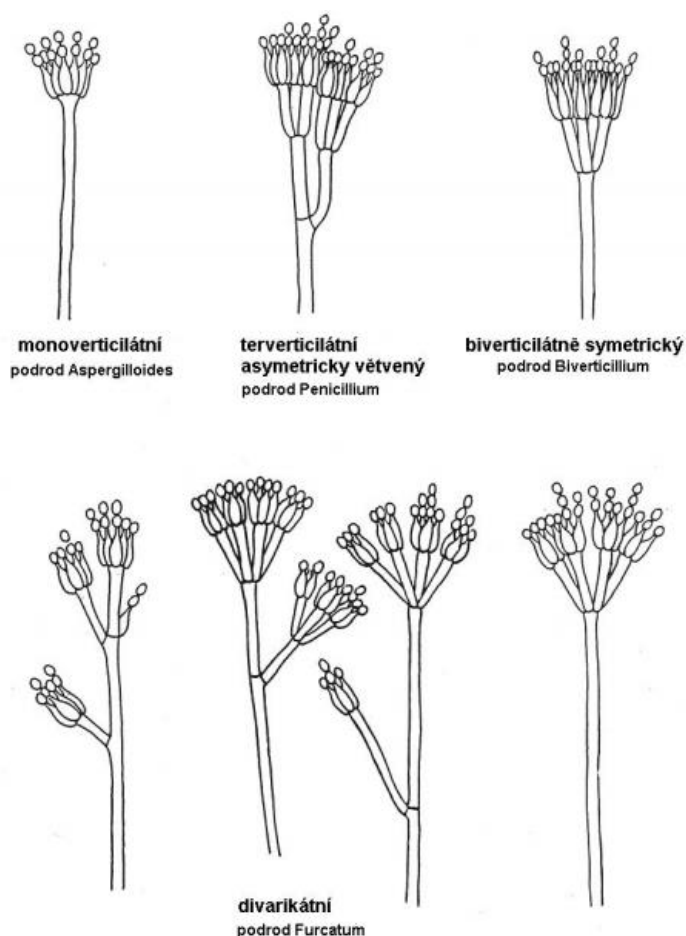
3.1.2.1 Rod *Penicillium* Link

Příslušníci rodu *Penicillium* patří k nejrozšířenějším vláknitým mikromycetům teplého a mírného klimatu. Jejich spóry jsou prakticky všudypřítomné, a proto jsou také velmi častými kontaminanty potravin, životního a pracovního prostředí potravin (Malíř a Ostrý, 2003). Zástupci rodu *Penicillium* se vyskytují v půdě, ve vodě, na povrchu živých i odumřelých organismů, jejich spóry se nacházejí v ovzduší a na nejrozmanitějších substrátech, na kterých jsou schopné vyklíčit za minimálních životních podmínek (Tančinová, 2012). Některé druhy, např. *Penicillium camemberti*, *Penicillium candidum* nebo *Penicillium roqueforti* jsou používány jako startovací kultury při výrobě sýrů (Votava, 2003). Prakticky kladný význam těchto druhů je v produkci antibiotik, dále i jiných organických látek, které spolupůsobí např. při zrání některých sýrů nebo salámů, negativní v hnilobných procesech na plodinách, v produkci mykotoxinů a ve vyvolávání alergických onemocnění u některých lidí (Fassatiová, 1979).

Konidiofor je tvořený stopkou. Fialidy jsou konidiogenní buňky produkující konidie. Tvar fialid je důležitý taxonomický znak. Fialidy mohou vyrůstat přímo na stopce nebo z metul. Metuly jsou buňky vyrůstající v přeslenech přímo ze stopky na jedné nebo více větvích. Větve jsou buňky mezi stopkou a metulami. Konidie mohou být kulovité, oválné nebo elipsovité, hladké nebo různě drsné (Tančinová, 2012).

U rodu *Penicillium* rozeznáváme čtyři podrody (obr. 5): *Aspergilloides*, *Biverticillium*, *Furcatum*, *Penicillium*. Každý podrod má specifickou stavbu konidioforů. Podrod *Aspergilloides* má monoverticilátní konidiofor. Podrod *Biverticillium* má biverticilátně symetrický konidiofor s typickými acerozními fialidami, konidie jsou elipsovité až hruškovité, metuly jsou úzké, početné v přeslenu, délkou a tloušťkou se podobají fialidám. Podrod *Furcatum* produkuje dva typy biverticilátních penicillů. První typ (sekce *Furcatum*) je morfologicky podobný podrodu *Biverticillium*. Metuly jsou delší než fialidy, často nestejně délky, počet metul v přeslenu je obvykle 2 až 5. Druhý typ (sekce *Divaricatum*) můžeme charakterizovat jako nepravidelný. Některé druhy jsou spojené s monoverticilátními formami, jiné produkují větve. Do podrodu *Penicillium* patří terverticilátní druhy. Do tohoto podrodu řadíme druhy často se vyskytující v potravinách a krmivech a významné producenty mykotoxinů, např. *Penicillium*

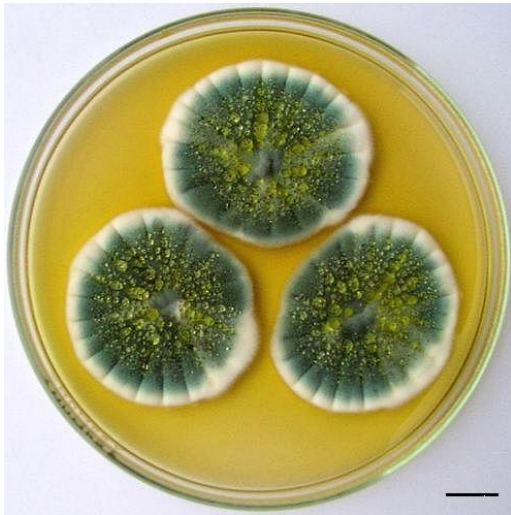
expansum, *Penicillium camemberti*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium verrucosum* (Tančinová, 2012).



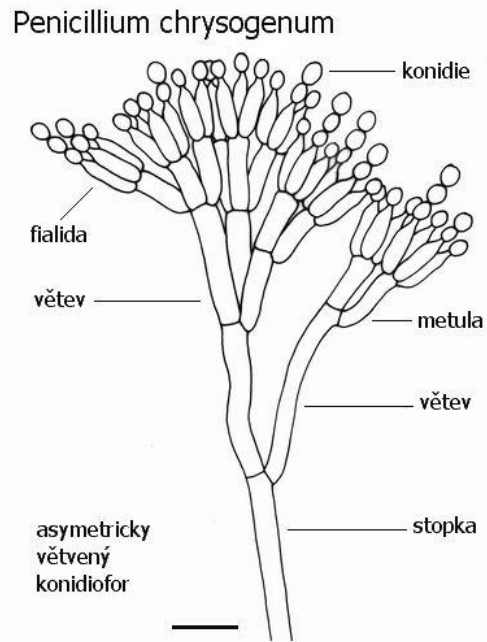
Obr. 5: Typy konidioforů u rodu *Penicillium* (Kubátová, 2006)

***Penicillium chrysogenum* Thom**

Kolonie *Penicillium chrysogenum* (obr. 6) jsou poměrně rychle rostoucí, obvykle sametové, s bílým až nažloutlým myceliálním okrajem, s modrozeleně až žlutozeleně zbarvenou sporulující částí a žlutými kapkami exudátu. Optimum růstu okolo 23 °C (Kubátová, 2001). Konidiofor *Penicillium chrysogenum* (obr. 7) je bi-, ter- a quaterverticilátní, stopka je 200 až 300 μm dlouhá a 3 až 4 μm široká, hladká. Tento druh je velmi častý v cereáliích, jako např. rýže, pšenice, ječmen, kukuřice, dále v mouce, mase, šunce, klobásách, margarínech, sýrech, ořechách, ovoci a koření (Tančinová, 2012). Vyskytuje se často na zaplísňených stěnách. Je schopen produkovat antibiotikum penicilin (Kubátová, 2001).



Obr. 7: Kolonie *Penicillium chrysogenum*
(Kubátová 2001)



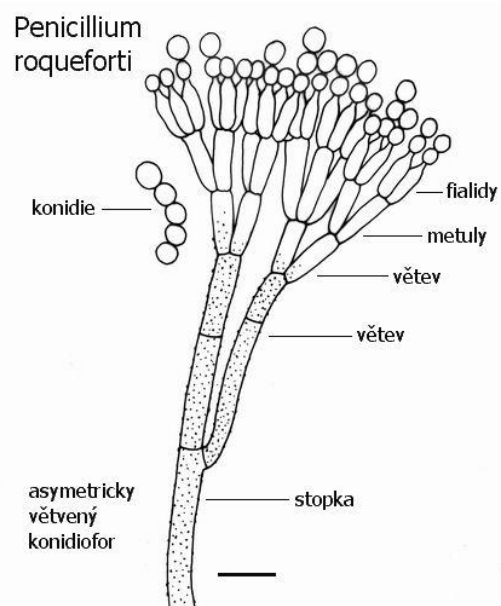
Obr. 6: *Penicillium chrysogenum*
(Kubátová, 2001)

***Penicillium roqueforti* Thom**

Kolonie *Penicillium roqueforti* (obr. 8) jsou rychle rostoucí, sametové, tmavozelené, často s bílým okrajem. Spodní strana je olivově zelená až tmavě černozeleňá. Roste od 4 °C do 35 °C (Kubátová, 2001), neroste při teplotě 37 °C (Tančinová, 2012). Konidiofor *Penicillium roqueforti* (obr. 9) je terverticilátní, příležitostně quaterverticilátní. Stopka je 100 až 250 μm dlouhá a 4 až 5 μm široká. Tento druh má hlavní úlohu při výrobě sýrů roquefortského typu. Roste rychle při chladničkových teplotách a způsobuje kažení uskladněných potravin. Je přítomný v ječmeni, rýži a mouce. Dalšími zdroji jsou olivy, lískové a vlašské ořechy, arašídy a čerstvá zelenina (Tančinová, 2012).



Obr. 8: Kolonie *Penicillium roqueforti*
(Kubátová, 2001)



Obr. 9: *Penicillium roqueforti*
(Kubátová, 2001)

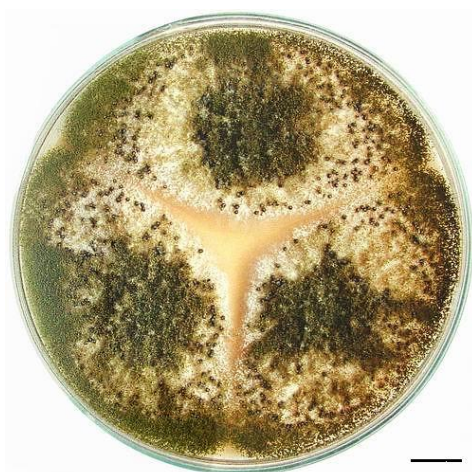
3.1.2.2 Rod *Aspergillus* P. Micheli ex Link

Při určování druhů rodu *Aspergillus* sledujeme kolonie na Czapkově agaru, kde vytvářejí dobře vyvinuté vegetativní mycelium. Charakteristické pro tento rod je hlavicovité zakončení konidioforu (Fassatiová, 1979). Mycelium je plstnaté až vatovité, bezbarvé nebo barevné (Kalhotka, 2014). Kolonie vynikají velmi pestrou škálou pigmentů (mohou být zbarveny v různých odstínech žluté, žlutozelené, zelenomodré, hnědé až černošedé), které mohou difundovat daleko do agaru (Votava, 2003). Konidiofor vyrůstá buď přímo ze substrátu, nebo ze vzdušných hyf. Je hyalinní, žlutě, nebo hnědě zbarvený, se stěnou hladkou, zdrsňelou, zoubkovatou nebo ostnitou. Na vrcholu se pozvolna nebo náhle rozšiřuje v měchýřek. Po celém obvodu nebo části měchýřku vyrůstají fialidy (konidionosné buňky), a to buď v jedné řadě, nebo ve dvou řadách nad sebou (Fassatiová, 1979).

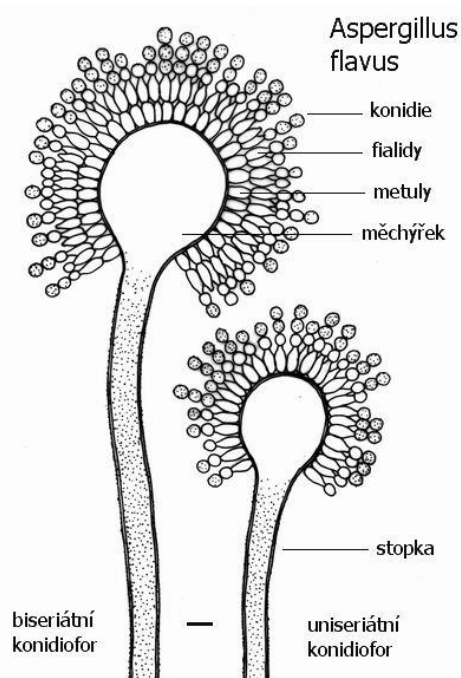
V současnosti bylo popsáno asi 18 druhů aspergilů patogenních pro člověka. Ve skutečnosti však za více jak 95 % všech infekcí odpovídají pouze tři druhy *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* a *Aspergillus niger*, z nichž *Aspergillus fumigatus* výrazně dominuje v etiologii aspergilózy více než 80 % podílem (Malíř a Ostrý, 2003).

***Aspergillus flavus* Link**

Kolonie *Aspergillus flavus* (obr. 10) rostou velmi rychle na Czapkově agaru a jsou vločkovité nebo vlnaté (Fassatiová, 1979). Jsou tmavozelené, olivovozelené nebo olivové. Mycelium je bílé (Tančinová, 2012). Optimum růstu je okolo 33 °C. Konidiofory *Aspergillus flavus* (obr. 11) jsou 400 až 1000 µm dlouhé s bradavčitou stopkou (Kubátová, 2001). Vyskytuje se v půdě, na semenech obilovin, ale i jiných rostlin, často na semenech různých ořechů (burské, lískové, vlašské i kokosové ořechy), dále i na potravinách (brambory, sušený hrách, fazolem, švestky, jablka, sušené mléko, atd.), (Fassatiová, 1979). Může produkovat hepatotoxické aflatoxiny B a kyselinu cyklopiazonovou. Patří mezi oportunní patogeny, způsobuje např. aspergilózu průdušek (Kubátová, 2001).



Obr. 10: Kolonie *Aspergillus flavus* (Kubátová, 2001)

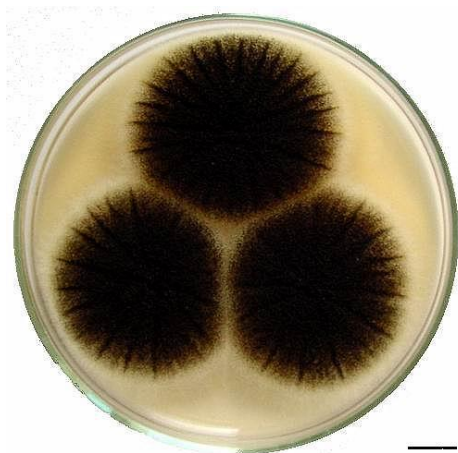


Obr. 11: *Aspergillus flavus* (Kubátová, 2001)

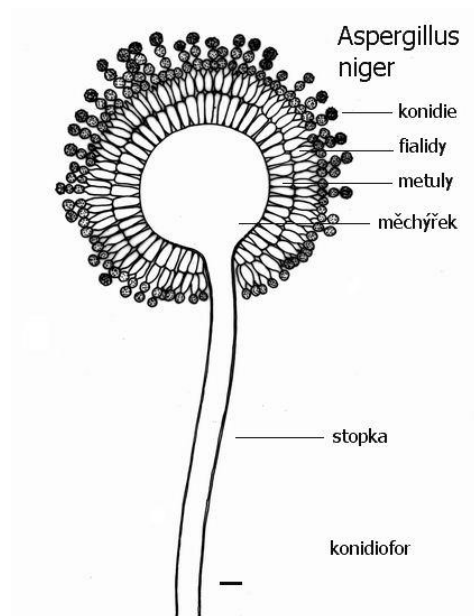
***Aspergillus niger* komplex**

Kolonie *Aspergillus niger* (obr. 12) rostou velmi rychle na Czapkově agaru a vytvářejí nejprve bílé vatovité mycelium. V době zralosti konidií porůstají celý povrch kolonie konidiofory s hnědými až černými hlavicemi (Fassatiová, 1979). Spodní strana kolonií je světlá nebo žlutá. Optimum růstu je okolo 35 až 37 °C. Konidiofory *Aspergillus niger* (obr. 13) jsou různě dlouhé, často i 1 až 3 mm. Celosvětově se vyskytuje velmi hojně, hlavně však v teplejších oblastech, a to především na rozmanitých potravinách

rostlinného i živočišného původu (Kubátová, 2001). Bylo zjištěno, že produkuje řadu organických kyselin (galovou, citrónovou, fumarovou, glukonovou, oxalovou), některé enzymy a tuky. V některých případech vyvolává onemocnění plic podobné tuberkulóze (Fassatiová, 1979).



Obr. 12: Kolonie *Aspergillus niger*
(Kubátová, 2001)



Obr. 13: *Aspergillus niger*
(Kubátová, 2001)

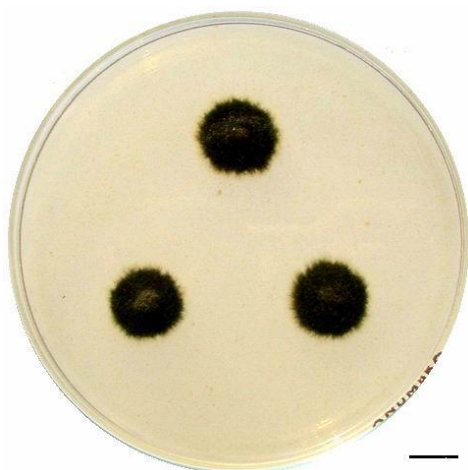
3.1.2.3 Rod *Cladosporium* Link

Rod *Cladosporium* tvoří řetězky vícebuněčných spor, které však vznikají pučením, takže jde o blastospory (Šilhánková, 2008). Blastospory jsou exospory, které vyrůstají na vláknkách mycelia. Často parazituje na rostlinách (chmelu, máku, okurkách, rajčatech), (Cempírková, 1997). Část se významně podílí na kontaminaci potravin rostlinného i živočišného původu (Malíš a Ostrý, 2003). Vyskytují se na stěnách potravinářských provozoven, ve vinařských a pivovarských sklepích, na chlazeném i mraženém mase a na chlazených vejcích (Cempírková, 1997).

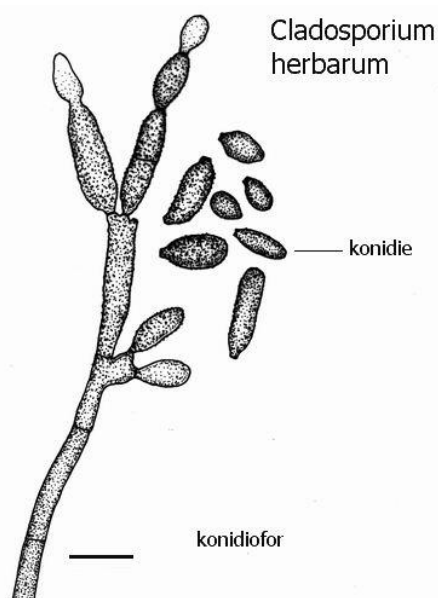
Mycelium je bohatě vyvinuto. Konidiofory na přirozeném substrátu vyrůstají většinou ve svazcích přímo ze stromatu, na agarových půdách se tvoří rozptýleně na konci nebo po stranách vzdušných hyf. Jsou většinou přímé, nevětvené, ale i větvíci se, olivově až temně hnědé. Konidie jsou světle šedé až temně šedohnědé nebo zelenohnědé. Tvarově i velikostí jsou konidie velmi různé: kulovité, oválné nebo válcovité. Vyskytují se konidie jednobuněčné až třibuněčné (Fassatiová, 1979).

***Cladosporium herbarum* (Pers.) Link**

Vzdušné mycelium je bohatě vyvinuto na sladínovém agaru (Fassatiová, 1979). Kolonie *Cladosporium herbarum* (obr. 14) jsou pomalu rostoucí, sametové nebo plstnaté, tmavě olivově zelené. Spodní strana kolonií je tmavě černozeleň až černá (Kubátová, 2001). Konidiofory *Cladosporium herbarum* (obr. 15) se vytvářejí častěji po straně vzdušných hyf, bývají nevětvené, hladké, tmavší než hyfy (Fassatiová, 1979). Optimum růstu je okolo 18 až 28 °C. Může způsobovat hniloby ovoce a zeleniny, může poškozovat i masné výrobky v chladicích boxech. Jeho konidie se vyskytují v létě a na podzim ve velkém množství v ovzduší (Kubátová, 2001). Druhy rodu *Cladosporium* patří k psychrofilní mykoflóře, vydrží i při teplotách do - 6 °C (Fassatiová, 1979).



Obr. 14: Kolonie *Cladosporium herbarum* (Kubátová, 2001)



Obr. 15: *Cladosporium herbarum* (Kubátová, 2001)

3.1.2.4 Rod *Fusarium* Link

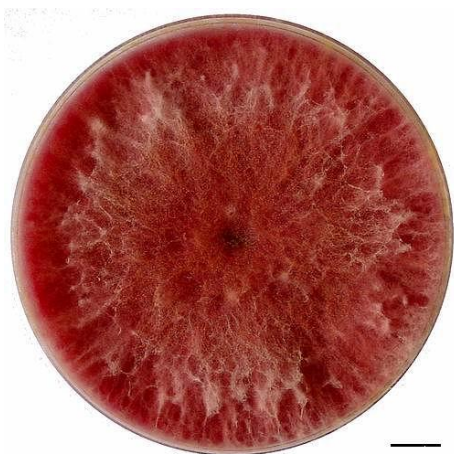
Druhy tohoto rodu žijí saprofytický v půdě, na rostlinných částech, ale jsou i parazitické na vyšších rostlinách. Způsobují hniloby některých plodin (např. jablek, rajčat, kukuřice), dále onemocnění celková, která se šíří cévními svazky. Velmi často parazitují na semenáčcích obilnin, u nichž způsobují hnilobu mladých stonků. Nákaza se přenáší z půdy nebo semen. Žijí v půdě v tzv. rhizosféře, tj. nejbližší zóně okolo kořínků. Pokud nedochází k parazitické činnosti, vytváří se určitá volnější symbióza mezi nimi a kořenovými buňkami (Fassatiová, 1979).

Konidiofory jsou větvené málo nebo hojněji. Na ose konidioforu se tvoří vstřícně nebo řídce přeslenovitě protáhlé fialidy, které plodí konidie. Jsou známy dva druhy konidií,

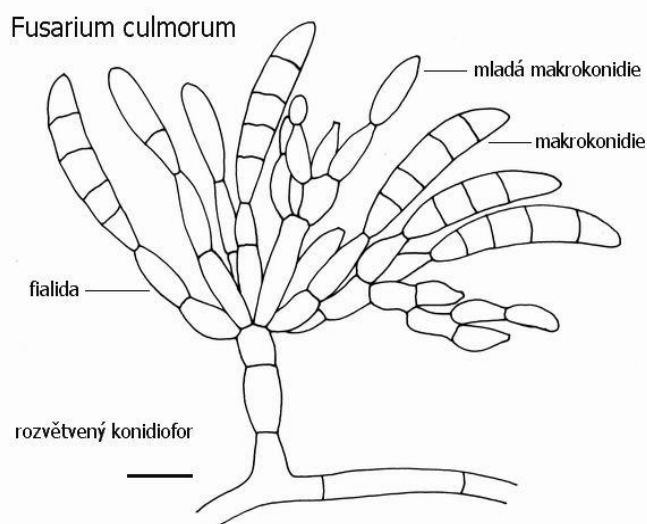
makrokonidie a mikrokonidie. Makrokonidie jsou dvoubuněčné až vícebuněčné a mají typický srpovitý tvar. Po delší kultivaci se přestávají tvořit. Mikrokonidie jsou jednobuněčné a elipsoidní, oválné nebo široce vejčité (Malíř a Ostrý, 2003).

***Fusarium culmorum* (W. G. Smith) Sacc.**

Kolonie *Fusarium culmorum* (obr. 16) rostou velmi rychle na sladínovém agaru a vytvářejí bílé vločkovité mycelium, které později žloutne až červená od pigmentu, který se vytváří v substrátovém myceliu a prolíná i na spodní stranu kultury (Fassatiová, 1979). Optimální teplota růstu je 25 °C. Makrokonidie *Fusarium culmorum* (obr. 17) jsou větvenovité a zakřivené. Mikrokonidie nejsou produkovány. Je rozšířen celosvětově zvláště v půdě a na cereáliích (Kubátová, 2001). Způsobuje hnilobu skladovaných jablek, brambor a cukrové řepy (Tančinová, 2012). Produkuje řadu mykotoxinů, zvláště trichotheceny a zearalenon (Kubátová, 2001).



Obr. 16: Kolonie *Fusarium culmorum*
(Kubátová, 2001)



Obr. 17: *Fusarium culmorum*
(Kubátová, 2001)

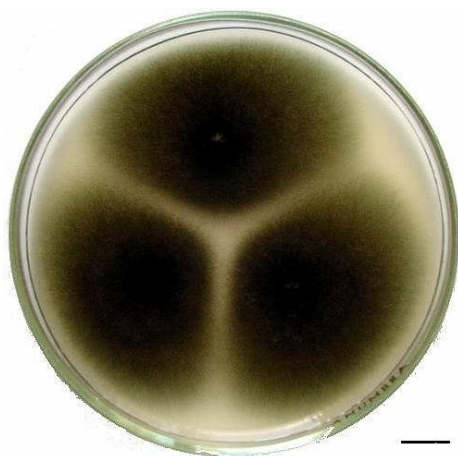
3.1.2.5 Rod *Alternaria* Nees

Rod *Alternaria* patří mezi rozšířené mikromycety vázané především na půdní ekosystém, kde se podílí na rozkladu organického substrátu. Některé druhy se úspěšně adaptovaly na parazitismus rostlin, ale jen výjimečně zvířat a člověka. Charakteristické konidie jsou pravidelně izolovány ze vzduchu (Malíř a Ostrý, 2003). Jako vzdušná kontaminace se vyskytuje v mlékárnách, mlékařských sklepích a na stěnách pivovarských místností. Ve skladištích zeleniny způsobuje hlavně skvrnitost košťálovin a černou hnilobu mrkve (Šilhánková, 2008).

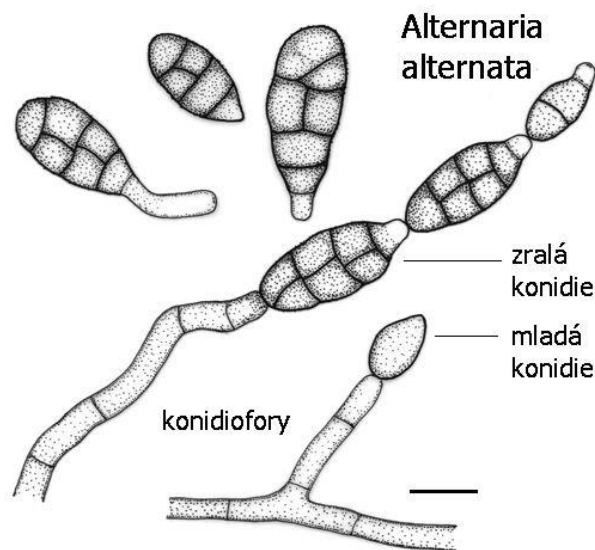
Na kultivačních médiích se vyznačují rychlým růstem a tvoří zpočátku bílé, později šedé až olivově hnědé kolonie (Malíř a Ostrý, 2003). Spodní strana porostu na agarových půdách je vždy tmavá – hnědočerná, šedočerná až černá. Charakteristické pro rod *Alternaria* jsou způsob tvorby a struktura konidií. Vegetativní mycelium je zčásti hyalinní (zvláště vzdušné), zčásti tmavě hnědě zbarvené (substrátové). Konidiofory jsou hustě článkovány, málo větvené a vytvářejí po stranách i na koncích vícebuněčné zdřovité konidie (Fassatiová, 1979).

***Alternaria alternata* (Fries) Keissler**

Kolonie *Alternaria alternata* (obr. 18) jsou sametové až jemně vlnaté, tmavě černoolivově zbarvené, u některých kmenů zpočátku šedobílé. Spodní strana je tmavě šedá až černá (Kubátová, 2001). Konidie *Alternaria alternata* (obr. 19) se tvoří v dlouhých řetězcích, které jsou většinou nevětvené. Konidie jsou hnědé, hladké i ostnitě (Fassatiová, 1979). Optimum růstu je okolo 25 až 28 °C (Kubátová, 2001). Je to běžný saprofyt, ale v parazitické činnosti je agresivnější než ostatní druhy. Vyskytuje se často jako rozkladač potravin všeho druhu a byl také izolován z ran živočišných těl (Fassatiová, 1979). Často se vyskytuje na cereáliích (ječmen, pšenice, rýže, kukuřice), ale i na paprikách, jablkách, fazolích, hrachu nebo na bramborách (Tančinová, 2012). Podobně jako jiné druhy i rod *Alternaria* patří k psychrofilní mykoflóře. Vegetuje i za teplot kolem 0 °C (Fassatiová, 1979). Může produkovat vysoce toxický metabolit AAT (*Alternaria alternata* toxin) podobný fumonisinu. Patří mezi oportunní patogeny, způsobuje např. kožní léze (Kubátová, 2001).



Obr. 19: Kolonie *Alternaria alternata* (Kubátová, 2001)



Obr. 18: *Alternaria alternata* (Kubátová, 2001)

4 MYKOTOXINY

4.1 Charakteristika mykotoxinů

Mykotoxiny jsou toxické sekundární metabolity plísní (Abd-Elghany et al., 2015, Zain, 2011, Coffey et al., 2009), které mohou kontaminovat zemědělské komodity na poli nebo během skladování (Streit et al., 2012). Mohou kontaminovat široké spektrum potravin a krmiv (Velíšek, 2002), především obiloviny, arašidy, maso, masné výrobky mléčné výrobky a vejce (Abd-Elghany et al., 2015). Mykotoxiny jsou velmi různorodá skupina biologických sloučenin (Sherif et al., 2009). Producenti těchto nebezpečných přírodních kontaminantů vyvolávají různé toxické syndromy nazývané souhrnně mykotoxikózy. Jsou všudypřítomní, a tak se mykotoxiny vyskytují prakticky na všech úrovních potravního řetězce většiny živočichů (Velíšek, 2002).

Mykotoxiny způsobují různé toxické účinky (Ashiq et al., 2014). Jsou to látky průkazně mutagenní, teratogenní, karcinogenní či mající účinky nefrotoxické, imunotoxické, hepatotoxické, estrogenní, některé však působí antimikrobiálně nebo cytotoxicky. Pro toxické účinky mykotoxinů je rozhodující dávka a doba jejich působení. Akutní otravy bývají vcelku výjimkou, zato chronické intoxikace jsou časté a vedou k poškození zdraví, snížení užitkovosti, případně až k úhynu. Kontaminace rostlinného materiálu nastává, jestliže přirozená mikroflóra během růstu rostlin či skladování ustoupí plísním,

kteřé pak vytvářejí tyto látky, škodlivé pro vyšší rostliny i bakteriální flóru (Kalač a Míka, 1997).

Z více než 300 dosud identifikovaných mykotoxinů se přibližně jen 20 těchto sloučenin vyskytuje v potravinách či krmivech ve vyšších hladinách a je spojováno se zdravotními riziky pro člověka i zvířata (Velíšek, 2002). Mezi hlavní mykotoxiny, které postihují krmivo, patří především aflatoxiny, deoxynivalenol a zearalenon (Signorini et al., 2012).

4.2 Charakteristika významných mykotoxinů

4.2.1 Aflatoxiny

Aflatoxiny jsou produkovány především plísněmi rodu *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* a výjimečně i *Aspergillus nomius* (Abd-Elghany et al., 2015). K jejich rozvoji může za příznivých podmínek (zvláště dostatečně vysoké teplotě) docházet prakticky na každém substrátu, nicméně nejvyšší nálezy aflatoxinů byly zaznamenány u kukuřice, podzemnice olejné, pistácií, paraořechů a bavlníkových semen. Nižší hladiny aflatoxinů lze nalézt i v mandlích, vlašských ořechách, hrozinkách, fíkách a různých druzích koření (Velíšek, 2002).

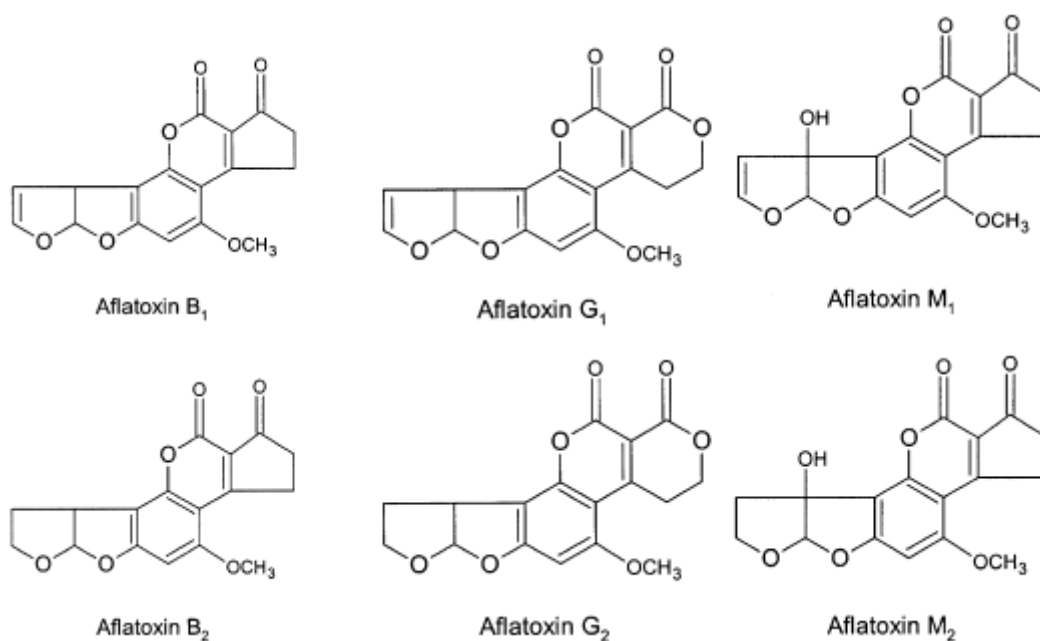
Pokud jde o chemické složení aflatoxinů, jedná o deriváty difuranokumarinu, látky chemicky poměrně stabilní, odolávající vysoké teplotě (do 250 °C). Nejvýznamnějším zástupcem je aflatoxin B₁ (Modrá a Svobodová, 2009). Je to jediný mykotoxin, který je podle zákona sledován a pro který existuje závazná standardní metoda podle vyhlášky pro laboratorní zkoušení krmiv (Vlková et al., 2009).

Aflatoxiny nezpůsobují akutní otravy. Mají karcinogenní účinky, zejména v játrech, kde způsobují také cirhózy a fibrózy. Aflatoxiny mohou vyvolat poškození plodu nebo až potraty (Vlková et al., 2009). Vysoce vnímavým druhem jsou zejména prasata a případy otravy aflatoxiny byly zjišťovány i u drůbeže. Nejcitlivějším vůči karcinogenním účinkům aflatoxinů je pstruh duhový, nádory jsou zjišťovány u generačních pstruhů ve věku 3 až 6 let. U kaprů je zjišťován především účinek hepatotoxický (Modrá a Svobodová, 2009).

Je známo šest hlavních typů aflatoxinů, označované velkými písmeny B₁, B₂, G₁ a G₂ (podle barvy fluorescence v UV světle, B = blue, modrá, G = green, zelená), M₁ a M₂ (obr. 20), které byly izolovány z mléka (Vlková et al., 2009). Základem skeletu prvních

dvou sloučenin je kumarin kondenzovaný s cyklopentanonem, u druhých dvou je místo cyklopentanonu 5,6-dihydropyran-2-on. Všechny látky navíc obsahují bisdihydrofurofuranový kruh (Velíšek, 2002).

Maximální přípustné obsahy aflatoxinů v potravinách se běžně pohybují v jednotkách až desítkách $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (suma 4 hlavních toxinů). V České republice je nejvyšší povolené množství sumy těchto aflatoxinů v rozmezí 4 až 40 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, v dětské výživě pouze 2 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ a v kojenecké výživě 1 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. U aflatoxinu M_1 je limit pro dětskou i kojeneckou výživu dokonce 0,05 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Velíšek, 2002).



Obr. 20: Chemická struktura aflatoxinu B, aflatoxinu G a aflatoxinu M (Zain, 2011)

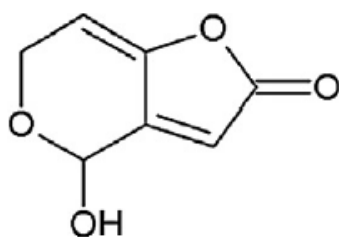
4.2.2 Patulin

Patulin (obr. 21) je produkován řadou druhů rodu *Penicillium* (např. *Penicillium claviforme*, *Penicillium expansum*, *Penicillium patulum*) a některými plísněmi rodu *Aspergillus* (*Aspergillus clavatus* a *Aspergillus terreus*). Některé z těchto plísní mohou produkovat patulin i při teplotách nižších než 2 °C. Patulin se vyskytuje na plesnivém pečivu, v párcích, ovoci (zejména na jablkách, hroznech, pomerančích a banánech), (Vlková et al., 2009). V důsledku kontaminace jablek byl patulin také nejednou detekován v ovocných nefermentovaných šťávách (Modrá a Svobodová, 2009).

Patulin je rozpustný ve vodě, etanolu, acetonu a chloroformu. Nerozpustný je v benzínu a petroléru (Betina, 1990). V kyselém prostředí (v rozmezí pH 3,0 až 6,5) je relativně

stabilní (Velíšek, 2002). V souvislosti s vystavením pokusných zvířat patulinu byl zjištěn neurotoxický, imunotoxický, genotoxický a teratogenní účinek (Modrá a Svobodová, 2009). Vyvolává gastrointestinální poruchy, otoky a krvácení různých orgánů (Vlková et al., 2009). Dále bylo pozorováno poškození ledvin postižených zvířat. Větší význam je patulinu přikládán z hlediska bezpečnosti potravin. Často se vyskytuje v jablečném pyré vyrobeném z vykrájených nahnilých jablek. Až při teplotě 120 °C po dobu 20 minut došlo v kontaminovaném pyré ke snížení patulinu o 93 % (Modrá a Svobodová, 2009).

Podle nařízení komise (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, nesmí množství patulinu v lihovinách, jablečném víně a jiných fermentovaných nápojích získaných z jablek nebo obsahujících jablečnou šťávu překročit 50 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$.



Obr. 21: Chemická struktura patulinu
(Marin et al., 2013)

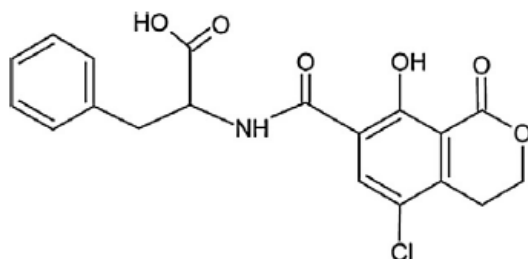
4.2.3 Ochratoxiny

Ochratoxiny jsou produkovány některými plísněmi rodu *Aspergillus* (např. *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus glaucus*) a dále plísněmi *Penicillium viridicatum* (Modrá a Svobodová, 2009). Tento mykotoxin byl nalezen v kukuřici, bobu, kakau, sójových bobech, ovsu, ječmeni, citrusových plodech, podzemnici olejné a kávě (Vlková et al., 2009). Vedle rostlinných produktů lze nalézt tento mykotoxin též v orgánech hospodářských zvířat, zejména ledvinách vepřů. Koncentrace zde často dosahují až stovek $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Velíšek, 2002). Zatímco plísně rodu *Aspergillus* produkují ochratoxiny při relativně vysokých teplotách (15 až 37 °C), *Penicillium viridicatum* je schopno produkovat ochratoxiny již při teplotách chladničkových (tj. kolem 4 °C), (Modrá a Svobodová, 2009).

Nejznámější a také nejtoxičtější je ochratoxin A (obr. 22), (Vlková et al., 2009). Má podobnou chemickou strukturu jako aflatoxiny (Rocha et al., 2014). Ve své molekule obsahuje fenylalanin se substituovaným (3R)-3,4-dihydromethylisokumarinem. Toxické účinky jsou přičítány atomu chlóru, kterým je aromatický kruh substituován (Velíšek, 2002).

Cílovým orgánem toxicity ochratoxinu A jsou ledviny. Vedle nefrotoxického účinku působí také hepatotoxicky, teratogenně a imunosupresivně (Modrá a Svobodová, 2009). Tak jako ostatní mykotoxiny je vysoce termostabilní a není možná ho zničit pouhým varem (Vlková et al., 2009).

Podle nařízení komise (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, nesmí množství ochratoxinu A v produktech pocházejících z nezpracovaných obilovin, včetně zpracovaných výrobků z obilovin a obilovin určených k přímé lidské spotřebě překročit $3,0 \mu\text{g.kg}^{-1}$, v pražených kávových zrnech a mleté pražené kávy kromě rozpustné kávy nesmí překročit $5,0 \mu\text{g.kg}^{-1}$.



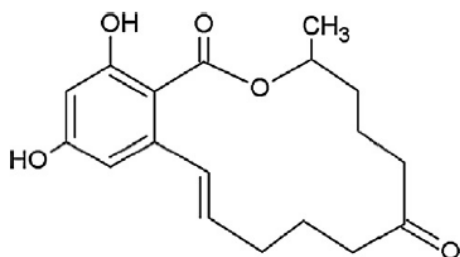
Obr. 22: Chemická struktura ochratoxinu A
(Marin et al., 2013)

4.2.4 Zearalenon

Zearalenon (obr. 23) je mykotoxin produkovaný plísní *Fusarium graminearum* a dalšími druhy plísní rodu *Fusarium* (Zain, 2011). Jak jeho název napovídá, bývá detekován zejména v zaplísněné kukuřici seté (*Zea mays*), (Modrá a Svobodová, 2009). Byl izolován i ze pšenice, ova, ječmene a sezamu. Fluoreskuje zeleně na UV světle (Vlková et al., 2009). Dle chemického složení se jedná o lakton kyseliny resorcylové (Modrá a Svobodová, 2009).

Toxicita zearalenonu u skotu je silnější než u drůbeže, ale slabší než u prasat. U samic v prepubertálním stádiu se jedincům zvětšuje mléčná žláza, toxin má silný uterotrofní

efekt (otoky dělohy a zevních pohlavních orgánů) a vyvolává atrofii vaječnicků. U samců se prodlužují prsní bradavky a varlata zakrňují (Kalač a Míka, 1997).



Obr. 23: Chemická struktura zearalenonu
(Marin et al., 2013)

4.2.5 Trichotheceny

Trichotheceny jsou produkovány rodem *Fusarium* (Marroquín-Cardona et al., 2014). Byly izolovány především z kukuřice, pšenice, sóji, semen olejnin a pивě vyrobeném z napadeného ječmene. Příležitostně se vyskytují i ve špatně skladované rýži (Vlková et al., 2009). Nejznámějšími zástupci jsou deoxynivalenol a T-2 toxin. Dalšími zástupci jsou nivalenol, diacetoxyscirpenol či HT-2 toxin. K masivní produkci trichothecenů plísněmi v polních podmínkách dochází zejména v letech s vysokým množstvím srážek, v důsledku čehož bývá sklizeň plodin zpožděná (Modrá a Svobodová, 2009).

Trichotheceny vykazují dermatotoxickou aktivitu a již při pouhém kontaktu s kůží, či slizničním epitelem mohou vyvolat nekrotické léze. Základní problémy vyvolané intoxikací trichotheceny jsou gastrointestinální léze, zaostávání v růstu a náchylnost k infekčním onemocněním (Opletal a Skřivanová, 2010).

Z hlediska chemické struktury představují trichotheceny pestrou skupinu sloučenin. Vesměs jde o tricyklické seskviterpeny s šestičlenným kruhem, obsahující dvojnou vazbu mezi uhlíky C-9 a C-10 a epoxyskupinu v poloze C-12 a C-13 (Velíšek, 2002).

Podle charakteristických chemických vlastností se rozlišují 4 podskupiny trichothecenů, a to trichotheceny A, B, C a D (Velíšek, 2002):

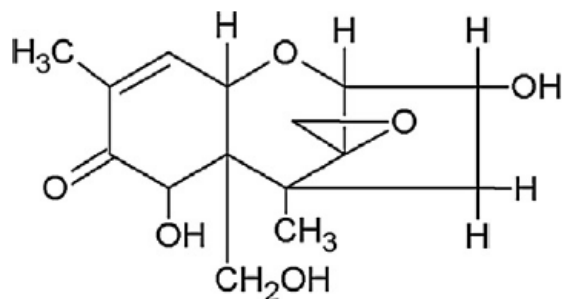
- typ A, který nemá na C-8 oxoskupinu (např. T-2 toxin),
- typ B, kde je na C-8 oxoskupina (např. nivalenol, deoxynivalenol),
- typ C obsahující další epoxyskupinu v poloze C-7 a C-8 nebo C-8 a C-9 (např. krotocin),

- typ D, který obsahuje makrocyclický kruh mezi C-4 a C-15 (např. verrukariny, roridiny a satratoxiny).

Hygienické limity pro trichotheceny se ve státech Evropské unie poněkud liší, pro deoxynivalenol se pohybují v rozmezí 1 až 2 mg.kg⁻¹. V České republice je povolené množství pro deoxynivalenol u obilovin (včetně rýže a kukuřice) 2 mg.kg⁻¹, pro mouku 1 mg.kg⁻¹ (Velíšek, 2002).

4.2.5.1 Deoxynivalenol (DON)

Deoxynivalenol (obr. 24) je produkován zejména plísněmi *Fusarium graminearum* a *Fusarium culmorum* (Richard, 2007). Plísně produkující deoxynivalenol napadají převážně pšenici, ječmen a kukuřici, méně častý je výskyt v ovsu, rýži nebo žitu. Akutní toxicita deoxynivalenolu je poměrně nízká, chronická expozice zvířat tímto mykotoxinem však může vyvolat nemalé finanční ztráty jejich chovatelů. Nejcitlivějším druhem je prase, vnímavý je však také skot, koně, psi či drůbež (Modrá a Svobodová, 2009). Příznakem akutní intoxikace je zvracení, bolesti břicha, průjmy, bolesti hlavy spojené se závratěmi apod. (Velíšek, 2002).



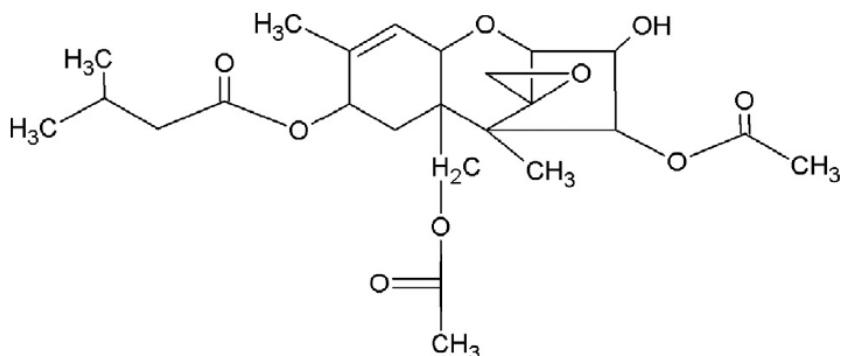
Obr. 24: Chemická struktura deoxynivalenolu
(Marin et al., 2013)

4.2.5.2 T-2 toxin

Nejčastějšími producenty tohoto mykotoxinu jsou *Fusarium sporotrichioides*, *Fusarium poae* a *Fusarium equiseti*. Tyto plísně rostou na pšenici, kukuřici, ovsu, ječmeni, sóje či fazolích. Rizikovým faktorem zvyšujícím pravděpodobnost kontaminace plodin či píče T-2 toxinem je fluktuace mírných až chladných teplot vedoucí k opožděnému dozrávání plodin (Modrá a Svobodová, 2009).

T-2 toxin (obr. 25) vyvolává onemocnění zvané alimentární toxická leukémie, která se z počátku projevuje zvracením, průjmy, záněty sliznic a bolestmi hlavy, v dalším

stádiu dochází ke snížení počtu krevních destiček a bílých krvinek. V důsledku oslabení organismu dochází ve třetí fázi k infekci mikroorganismy, které jsou za normálních podmínek pro člověka neškodné (Vlková et al., 2009).



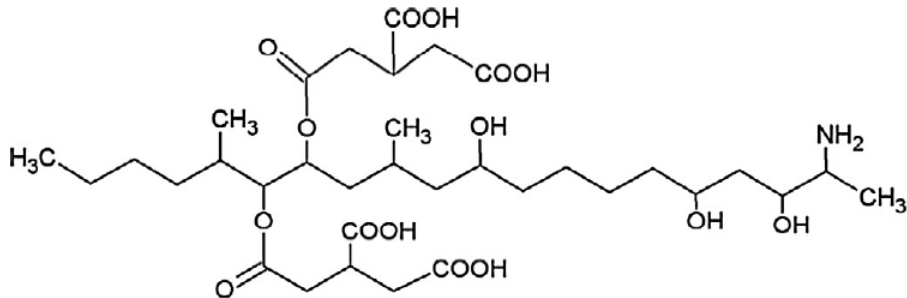
Obr. 25: Chemická struktura T-2 toxinu (Marin et al., 2013)

4.2.6 Fumonisin

Fumonisin jsou produkovány především plísněmi rodu *Fusarium*. Nejčastějším producentem těchto mykotoxinů je *Fusarium verticillioides*, dalšími producenty fumonisinů jsou pak např. *Fusarium proliferatum*, *Fusarium nygamai* či *Alternaria alternata* (Modrá a Svobodová, 2009). Fumonisin se převážně nacházejí v kukuřici (zde jejich obsahy mohou dosáhnout i desítek $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) a v příslušných produktech používaných jako krmivo (siláž), často jsou prokázány i v kukuřičných výrobcích jako jsou lupínky apod. Nálezy fumonisinů byly hlášeny též v rýži nebo prosu (Velíšek, 2002). Kontaminovaná píče se obvykle zkrmuje několik týdnů, než se objeví první příznaky otravy (Kalač a Míka, 1997).

V současné době je známo 6 fumonisinů (fumonisin A₁, A₂, B₁, B₂, B₃, B₄), z nichž nejvýznamnější je fumonisin B₁ (obr. 26), (Velíšek, 2002). Fumonisin mají hepatotoxické a neurotoxické účinky a způsobují rakovinu jícnu (Vlková et al., 2009). Nejvíce nebezpečným živočišným druhem je kůň, u něhož vystavení fumonisinů způsobuje onemocnění označované jako equinní leukoencefalomalácie (ELEM), (Modrá a Svobodová, 2009). ELEM je onemocnění koní lokalizované v mozku, jsou postižena játra a ledviny (Suchý a Herzig). U prasat se otrava fumonisinem projevuje především edémem plic (PPE – porcinní pulmonální edém), (Modrá a Svobodová, 2009). V obou případech může intoxikace vyššími dávkami vést k úmrtím zvířat (Velíšek, 2002).

Hygienické limity pro tyto mykotoxiny dosud stanoveny nebyly, neboť jejich toxikologické hodnocení dosud není ukončeno (Velíšek, 2002).



Obr. 26: Chemická struktura fumonisinu B₁ (Marin et al., 2013)

4.3 Faktory ovlivňující produkci mykotoxinů v potravinách

Při pěstování kulturních plodin vzniká řada složitých vztahů a interakcí mezi rostlinou, mikroskopickými houbami, hmyzem a způsobem ošetřování rostlin. Tyto interakce pak ovlivňují produkci a obsah mykotoxinů v potravinových surovinách (Malíř a Ostrý, 2003).

Tvorba mykotoxinů závisí na řadě faktorů, jako jsou vlhkost, teplota, pH, přítomnost kyslíku v době růstu hub na substrátu, poškození celistvosti zrna způsobené mechanicky nebo hmyzem, teplotním poškozením a kvalitou houbového inokula stejně jako interakcí nebo kompeticí (konkurencí) mezi liniemi hub (Suchý a Herzig, 2005).

4.3.1 Vlhkost

Polní vláknité mikromycety jsou takové, které se rozvíjejí na různých rozkládajících se substrátech a vyžadují ke svému růstu vysokou relativní vlhkost (20 až 25 %), zatímco skladištní vláknité mikromycety jsou schopny růst na substrátech při nižší relativní vlhkosti (10 až 18 %), (Malíř a Ostrý, 2003). Nejdůležitější je tzv. vodní aktivita (a_w). Je to poměr tlaku vodní páry nad potravinou nebo krmivem a tlaku nad vodou za dané teploty (Suchý a Herzig, 2005). Pro vláknité mikromycety rodu *Aspergillus* kolísá optimální aktivita vody a_w mezi 0,72 až 0,9. Většina penicilií lépe roste při $a_w > 0,95$. Fuzária vyžadují vyšší vodní aktivitu a_w 0,98 až 0,995 (Malíř a Ostrý, 2003).

4.3.2 Teplota

Obecně platí, že optimální teplota pro produkci mykotoxinu je teplota, která je blízká optimální teplotě pro růst vláknitých mikromycetů. To se děje např. v případě tvorby aflatoxinů vláknitými mikromycetami *Aspergillus flavus* nebo ochratoxinu A vláknitými mikromycetami *Aspergillus ochraceus*. Jiné mykotoxiny, např. zearalenon, produkované vláknitými mikromycetami *Fusarium graminearum*, vyžadují teplotu nižší než je optimální teplota pro růst houby (15 až 25 °C). Některé mikromycety (např. *Cladosporium herbarum*) rostou při teplotách nižších než 0 °C, jiné (*Fusarium tricinctum*) produkují mykotoxiny (trichotheceny) v rozsahu teplot 1 až 4 °C (Malíř a Ostrý, 2003).

4.3.3 Kyselost prostředí

Je známo, že nárůst vláknitých mikromycetů produkujících aflatoxiny se uskutečňuje při pH 5, ačkoliv optimální produkce toxinů vyžaduje pH vyšší (Malíř a Ostrý, 2003).

4.3.4 Přítomnost kyslíku

Většina vláknitých mikromycetů potřebuje pro svůj rozvoj kyslík. Vláknité mikromycety, které pro svůj růst vyžadují nejvíce kyslíku, kontaminují povrch substrátu (Malíř a Ostrý, 2003). Pokles koncentrace kyslíku pod 1 % vede k útlumu produkce mykotoxinů, konkrétně aflatoxinů. Výjimkou je plíseň *Fusarium verticillioides*, která je schopna růst v prostředí s obsahem až 60 % CO₂ (Suchý a Herzig, 2005).

4.3.5 Hmyz

Hmyz a roztoči jsou přenašeči spor, které zavlékají ranami až do zrna (Kalač a Míka, 1997). V místech zamořených hmyzem jsou cereálie daleko více náchylné ke kontaminaci mikromycetami a mykotoxiny. Hmyz poškozují obal zrna, což usnadňuje penetraci inokula dovnitř zrna (Malíř a Ostrý, 2003). Podle Suchého a Herziga (2005) jsou nejčastějšími přenašeči zejména roztoči a různé druhy hmyzu, především jde o skladištní škůdce. Hmyz a larvy masařek, zavíječe kukuřičného, brouci a chrousti hrají důležitou roli při poškození kukuřice *Fusarium moniliforme*. Také kontaminace podzemnice olejné, bavlny a kukuřice vláknitými mikromycetami *Aspergillus flavus* nebo aflatoxiny před sklizní je často ovlivněna nálety hmyzu. Podobně působí i činnost hlodavců a ptáků na špatně uskladněných a nechráněných cereáliích (Malíř a Ostrý,

2003). Hmyz a roztoči se při teplotě < 18 °C téměř nevyvíjejí, zrovna tak jako při vlhkosti substrátu < 14 % (Kalač a Míka, 1997).

4.3.6 Substrát

Složení substrátu (tab. 2) je nejvýznamnějším faktorem, který má vliv na produkci mykotoxinu (vysoký obsah tuků a sacharidů), (Suchý a Herzig, 2005). Vlákňité mikromycety nejsou schopny se stejnou intenzitou se rozvíjet na jakémkoliv substrátu (Malíř a Ostrý, 2003).

4.3.7 Chemické faktory

Široce jsou studovány účinky pesticidů na různé rostlinné kultury. Pokud jsou pesticidy při zásahu úspěšné, je riziko kontaminace mykotoxiny malé. Ale některé studie prokázaly, že při nevhodném použití pesticidů (v subletálních dávkách) může být naopak tvorba mykotoxinů podpořena. Přípravek Dichlorvos je znám jako insekticid inhibující biosyntézu mykotoxinů – aflatoxinů, zearalenonu, citrininu, patulinu a ochratoxinu A. Je nutné pesticidy používat, ale cíleně a v optimálních doporučených dávkách (Malíř a Ostrý, 2003).

Tab. 2: Faktory podporující produkci mykotoxinů během uskladnění (Malíř a Ostrý, 2003)

Mykotoxiny	Vlákňité mikromycety	Druh substrátu	Podporující podmínky
Aflatoxiny	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus parasiticus</i>	Arašídny, bavlna, cereálie, olejniny, sušené ovoce	Vlhké teplo - tropické oblasti - přehřátí při uložení
Zearalenon	<i>Fusarium</i>	Kukuřice, čirok	Mírné klima, opožděná sklizeň, rychlé uskladnění
Deoxynivalenol	<i>Fusarium</i>	Kukuřice, cereálie	Mírné podnebí, rychlé uskladnění
Trichotheceny	<i>Fusarium</i>	Kukuřice, cereálie	Mírné podnebí, rychlé uskladnění
Ochratoxin A	<i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Penicillium viridicatum</i>	Pšenice, ječmen, oves, žito, káva	Vlhkost při uskladnění, studené a vlhké klima
Patulin	<i>Penicillium expansum</i> <i>Byssosclamy</i>	Jablka, kompoty, džusy, siláž	Makroskopické poškození plodu, nedostatek anaerobiózy

5 MYKOTOXINY V KRMIVECH A POTRAVINÁCH

Přítomnost mykotoxinů v krmivech a potravinách představuje obecné zdravotní riziko, které je potřeba držet pod dohledem. Dále je nutné omezit proniknutí kontaminovaných surovin k dalšímu zpracování v krmném a potravinovém řetězci. Za tímto účelem byly stanoveny doporučené limity udávající maximální přípustnou koncentraci kontaminantů v krmivech a krmných surovinách (Kalina a Váňa, 2005).

Nejvýznamnější rody plísní produkující mykotoxiny, které se nachází v potravinářských výrobcích, jsou *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Claviceps* a *Penicillium* (Boevre et al., 2015).

Výskyt plísní v krmivech je obecně indikátorem špatných skladovacích podmínek. Kontaminovaná krmiva jsou jen v lepším případě podmíněně zkrmitelná, ale zpravidla jsou považována za zkažená a nekrmitelná, zejména pro březí plemence a mláďata, pokud je koncentrace vyšší než 10^6 či $10^7 \cdot \text{g}^{-1}$ siláže (Skládanka et al., 2011). Z konzervovaných krmiv jsou nejčastějším zdrojem mykotoxinů seno a siláže, především kukuřičné (Suchý a Herzig, 2005). Siláž je zelená píce konzervovaná mléčným kvašením za anaerobních podmínek (Alonso et al., 2013). V siláži mohou být hlavně detekovány deoxynivalenol a zearalenon. Jejich obsah je redukován pomocí aktivity bakterií mléčného kvašení v siláži a bachorové mikroflóry (Kalač, 2011).

Za riziková krmiva lze pokládat prakticky všechny obiloviny, olejniny, luskoviny a produkty z nich vyrobené (Suchý a Herzig, 2005). Z obilovin bývají nejčastěji napadány kukuřice, pšenice a ječmen. V kukuřici a pšenici jsou hlavně detekovány deoxynivalenol, fumonisin B₁, zearalenon, HT-2 toxin a ochratoxin A (Monbaliu et al., 2010). V ječmeni jsou to aflatoxiny, ochratoxin A, zearalenon, deoxynivalenol, nivalenol, T-2 toxin a HT-2 toxin (Ibáñez-Vea et al., 2012).

Tvorba a výskyt mykotoxinů v krmivech je celosvětovým problémem ve všech geografických oblastech, neboť podle odhadů Organizace pro výživu a zemědělství (FAO) je 25 % světové produkce obilovin kontaminováno mykotoxiny. Podle Suchého a Herziga (2005) se dá předpokládat, že ještě větší množství může být kontaminováno mykotoxiny dosud neidentifikovanými. Teplejší klima je příznivější pro produkci aflatoxinů a fumonisinů, v chladnějším pásmu převládají ochratoxin, deoxynivalenol a zearalenon (Zeman, 2006).

Produkce toxinů v krmivech je obecně ovlivněna těmito faktory (Zeman, 2006):

- a) fyzikálními: teplota, vlhkost vlastního substrátu, vlhkost prostředí, složení substrátu, mechanické poškození povrchového obalu (tkáně), dostupnost, kyslíku a živin, způsob sklizně a skladování, výskyt polních plísní a další,
- b) chemickými: složení sušiny krmiva, přítomnost fungicidních a baktericidních látek, přítomnost mikroprvků, hodnota pH, aplikace konzervačních prostředků, podíl a složení epifytní mikroflóry a další,
- c) biologickými: vlastnostmi kmene a druhové příslušnosti plísní, konkurenčními vztahy plísní a bakterií, toxinogenní vlastnosti.

5.1 Vliv plísní a mykotoxinů na zdraví zvířat a lidí

Výsledný účinek mykotoxinů závisí na mnoha faktorech. Rozhodující je samozřejmě délka expozice a její míra. Dále se uplatňují živočišný druh, věk jedince, jeho tělesná hmotnost nebo expozice jinými toxiny. Mláďata bývají obecně k účinkům mykotoxinů citlivější. Toxicita (tab. 3) některých mykotoxinů (např. ochratoxinu A) u skotu a přežvýkavců je naopak relativně nízká, protože bachorová mikroflóra zajišťuje jejich degradaci na biologicky méně aktivní látky (Modrá a Svobodová, 2009).

Mezi základní projevy intoxikace patří (Opletal a Skřivanová, 2010):

- snížení příjmu krmiva,
- zhoršení užitečnosti a konverze živin,
- oslabení imunitního systému, snížená odolnost organismu vůči infekčním onemocněním,
- chronické zánětlivé reakce,
- v případě předávkování či při dlouhodobé expozici vysokým hladinám mykotoxinů může docházet k úhynu,
- alergické reakce,
- patologické změny na orgánech (urogenitální trakt, játra, centrální nervová soustava, pohlavní orgány a další),
- mutagenní, kancerogenní nebo teratogenní účinky,
- kumulace v živočišných produktech (čímž dochází k přenosu rizika výskytu mykotoxinů dále v řetězci).

Tab. 3: Toxicita mykotoxinů (Modrá a Svobodová, 2009)

Mykotoxin	Cílová tkáň
Aflatoxiny	Játra
Ochratoxiny	Ledviny
Trichotheceny	Imunitní systém
Zearalenon	Pohlavní ústrojí
Fumonisin	CNS, játra – koně, plíce – prasata

5.1.1 Mykózy

Mykózy jsou pravá infekční onemocnění vyvolávaná mikroskopickými houbami (Paříková, 2001). Patří k nejzávažnějším formám jejich působení na lidské zdraví (Malíř a Ostrý, 2003). Mykotická infekční agens napadala vždycky osoby, které měly narušený imunitní systém, ať již v důsledku dlouhodobě podávaných antibiotik, či chemoterapeutik s imunosupresivními účinky, dále při hormonální léčbě, ozařování apod. Jedná se nejen o dermatomykózy, ale i o mnohem závažnější hluboké orgánové mykózy, které většinou končí smrtí (Paříková, 2001).

I když většina původců mykotických onemocnění jsou stále kvasinky, vzrůstá počet mykóz způsobených plísněmi. Rozdíl je v tom, že kvasinkové infekce vznikají endogenní cestou (při snížené imunitě člověka se pomnoží kvasinky přítomné na sliznicích). Plísně se dostávají do člověka vždy exogenní cestou, z vnějšího prostředí (Paříková, 2001).

Z lékařského hlediska můžeme mykotické infekce rozdělit na (Malíř a Ostrý, 2003):

- kožní a slizniční mykózy,
- endemické mykózy vyvolané dimorfními houbami,
- oportunní mykózy.

5.1.2 Mykoalergózy

Mykoalergózy jsou stavy přecitlivělosti nejen na spory plísní, ale i na jejich metabolické produkty. Plísně produkují značné množství spor. Při slabém závanu větru se z narostlého a vysporulovaného mycelia uvolňují do vzduchu. Jsou rovněž součástí prachu na zemi, který se vířením dostává do ovzduší. U citlivých osob vzniká vůči antigenům mikromycetů alergie. Dochází k podráždění spojivek, dýchacích cest, vznikají alergická respirační onemocnění, bronchitidy (Paříková, 2001).

Po chemické stránce je většina mykoalergenů tvořena proteiny a glykoproteiny, popř. polysacharidy (Malíř a Ostrý, 2003).

Účinek plísní jako alergenů závisí na počtu jejich částic ve vzduchu, na koncentraci těkavých chemických látek ve vzduchu, délce pobytu člověka v prostředí se zvýšenou kontaminací plísní, na dispozici člověka a jeho imunitě (Paříková, 2001). Doposud bylo popsáno více než 80 rodů hub, které mohou vyvolávat alergické reakce u lidí (Malíř a Ostrý, 2003).

Podle způsobu vstupu alergenů do organismu rozlišujeme (Paříková, 2001):

- alergie inhalační (dýchacími orgány),
- alergie kontaktní (dotykem kůže),
- alergie potravinové (vstup zažívacím traktem).

Za nejčastější alergeny můžeme považovat plísně následujících druhů: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Botrytis*, *Aspergillus*, *Penicillium* a *Mucor*. Podle vyjádření alergologů patří plísně mezi tři nejčastěji se vyskytující alergeny a jsou na třetím místě za pyly a roztoči (Paříková, 2001).

5.1.3 Mykotoxikózy

Mykotoxikózy jsou onemocnění vyvolaná sekundárními metabolity, toxickými látkami, které plísně produkují přímo do substrátu, na němž rostou. Jedná se o mykotoxiny především v napadených potravinách, zemědělských produktech a krmivech. Mykotoxiny způsobují závažná onemocnění, chronická i akutní, často končící až smrtí lidí a hospodářských zvířat. Záleží na tom, jaké množství se dostane do organismu (Paříková, 2001).

Akutní primární mykotoxikózy vznikají po požití vysokých dávek mykotoxinů (Votava, 2003). Nejčastěji vyvolávají degeneraci jater, ledvin, poškození trávicího traktu, oběhového systému a centrální nervové soustavy. Uplatňuje se hepatotoxický účinek (tuková degenerace funkční jaterní tkáně, nekrózy, cirhóza), (Opletal a Skřivanová, 2010).

Chronické primární mykotoxikózy jsou následkem dlouhodobějšího požívání menších či středně vysokých dávek mykotoxinů (Votava, 2003). Projevují se teratogenními, mutagenními účinky, poškozením centra krvetvorby (krvácení, snížená srážlivost,

změny v kostní dřeni), oslabením imunitního systému (zvýšená náchylnost k infekčním chorobám) a snížením užitečnosti zvířat (Opletal a Skřivanová, 2010).

5.1.3.1 Ergotismus

Ergotismus patří mezi první zjištěné mykotoxikózy u člověka, spojené zpravidla s požíváním potravin z obilnin (žita) a rýže kontaminovanými tvrdými černými nebo temně fialovými sklerocii – námelem polní mikroskopické houby rodu *Claviceps*. Jsou popsány 2 charakteristické formy ergotismu, a to: gangrenózní a konvulzivní. Toxické námelové alkaloidy (ergotamin, ergocristin) svými vasokonstrikčními účinky vedou ke vzniku gangrenózní formy ergotismu. První příznaky se projevují edémem končetin, parestéziemi a končí gangrénou. Dalším typem ergotismu je tzv. konvulzivní forma, vyvolaná námelovými alkaloidy produkovanými mikromycety *Claviceps fusiformis*. Intoxikace byla provázena nejprve gastrointestinálními příznaky – nauzeou, zvracením, závratěmi, po kterých následovaly neurologické příznaky – ospalost, křeče, slepota a paralýza (Malíř a Ostrý, 2003).

5.1.3.2 Aflatoxikóza

Akutní aflatoxikóza u lidí není příliš častá. Pravděpodobně první sporadické příznaky byly popsány Lingem v roce 1967 u tří dětí na Taiwanu. Děti zemřely na jaterní selhání s morfologickým nálezem ložiskových nekrotizací v játrech. Zdrojem byl pokrm z rýže. Rýže byla špatné jakosti tmavě zeleně zbarvená a plesnivá. Ve vzorcích rýže byly stanoveny vysoké koncentrace aflatoxinu B₁ (Malíř a Ostrý, 2003).

5.1.3.3 Reyův syndrom

Aflatoxin B₁ je považován za jeden z etiologických faktorů Reyova syndromu. Onemocnění postihuje převážně dětskou populaci v celém světě. Onemocnění má zpravidla dvoufázový průběh. První fáze začíná většinou jako banální respirační onemocnění, druhá fáze nastává pak za několik hodin nebo málo dní zvracením, průjmami a příznaky progradující encefalopatie (Malíř a Ostrý, 2003). Podle Šimůnka (2003) lze Reyův syndrom vyvolat i některými léky (např. Acylpyrin), jedy a virovou infekcí.

5.1.3.4 Onemocnění ze žluté rýže, kardiální beri-beri

Onemocnění ze žluté rýže vzniká po konzumaci mykotoxiny kontaminované rýže (Malíř a Ostrý, 2003). Vyvolávajícím toxinem je citreoviridin, který je produkován

především *Penicillium citreoviride*. Toxin má jasně žlutou barvu, která je na rýži patrná („žlutá rýže“). K účinné detoxikaci dochází při vystavení „žluté rýže“ v tenké vrstvě slunečním paprskům (Šimůnek, 2003). Mezi základní klinické příznaky mykotoxikózy vyvolané mykotoxiny *Penicillium citreoviride* patří ochrnutí končetin, hypotenze a dušnost, což odpovídá onemocnění kardiální beri-beri (Malíř a Ostrý, 2003).

5.1.3.5 Ochratoxikóza

Ochratoxikóza je celosvětově se vyskytující mykotoxikózou, popsanou u zvířat i lidí, zapříčiněnou příjmem ochratoxinu A v krmivu a potravinách. Četnost jejího výskytu závisí na rozličných faktorech, jako jsou geografické zóny, roční doba, klima, dietní zvyklosti (Malíř a Ostrý, 2003). Při ochratoxikóze zvíře přijímá méně krmiva, snižují se přírůstky, zvyšuje se příjem vody, objevují se průjmy, a s nimi dehydratace organismu. Obsah ochratoxinu A v krmivech pro prasata a drůbež by neměl přesáhnout limit $0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Kalač a Míka, 1997).

5.1.3.6 Alimentární toxická aleukie

Onemocnění je způsobeno T-2 toxinem a příbuznými trichotheceny, produkovány především houbami z rodu *Fusarium* (Šimůnek, 2003). Typickými primárními příznaky intoxikace je postižení trávicího ústrojí záněty, zvracení a průjmy, typické jsou i bolesti hlavy. V pozdějších fázích dochází k rozsáhlému snížení počtu krevních destiček a bílých krvinek, ve třetí fázi se projevují různé infekce vyvolané pro zdravého člověka banální neškodnou mikroflórou (Velíšek, 2002).

5.2 Přechod mykotoxinů z krmiv do živočišných produktů

Mykotoxiny se akumulují v různých orgánech nebo tkáních, vstupují do potravního řetězce skrz maso, mléko nebo vejce (Marin et al., 2013).

Spotřeba kravského mléka je vysoká, protože mléko je významné ve stravě všech věkových skupin. Poskytuje řadu důležitých živin, které jsou pro člověka nepostradatelné. Takže je velice důležité, aby mléko neobsahovalo toxické sloučeniny, které by mohly být zdravotně závadné pro člověka, zvláště pro děti, které jsou náchylnější k působení toxických sloučenin (Flores-Flores et al., 2015).

Mykotoxiny mohou přecházet do mléka nebo do jiných lidských potravin ze zaplísňeného krmiva (Laptev et al., 2014). Přítomnost aflatoxinů v mléce je považována

za nežádoucí (Signorini et al., 2012). Prokázalo se, že mléko a mléčné produkty mohou být po přijetí aflatoxinu B₁ v krmivu kontaminovány aflatoxinem M₁, což je jeho 4-hydroxyderivát (Kalač a Míka, 1997). Při zpracování mléka, při kterém dochází k oddělení mléčného tuku, je nutné počítat s relativním nárůstem obsahu aflatoxinu M₁ např. v odtučněném tvarohu, syrovátce, podmásli, apod. Při tepelném zpracování kontaminovaných surovin je možné zaznamenat pokles hladin aflatoxinů, jehož rozsah závisí na obsahu vlhkosti, množství tuku a dalších složkách přítomných v dané potravine (Velíšek, 2002). Aflatoxiny, které cirkulují v krvi nebo se vyskytují v játrech, se postupně mění na neškodnou formu. Aflatoxin může procházet do masa brojlerových kuřat, nejvíce se ho však ukládá v játrech a ledvinách. Jestliže se přívod aflatoxinů do těla zastavil, po 4 dnech byl nález negativní (Kalač a Míka, 1997). Podle Labudy et al. (2005) se v drůbežím krmivu mohou dále nacházet mykotoxiny jako zearalenon, deoxynivalenol, T-2 toxin nebo HT-2 toxin.

Podle nařízení komise (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, nesmí množství aflatoxinů v syrovém mléce, tepelně ošetřeném mléce a mléce pro výrobu mléčných výrobků překročit 0,5 µg.kg⁻¹.

Ochratoxin A je u skotu degradován bachorovou mikroflórou. To svědčí o tom, že přechod do mléka je minimální. Podobně je to s deoxynivalenolem, kdy přenos do mléka je odhadován jako velmi malý. Přítomnost T-2 toxinu byla v kravském mléce dokázána v rozmezí 0,05 až 2 % (Coffey et al., 2009). Ostatní mykotoxiny, jako patulin nebo fumonisiny, prochází bachorovou bariérou nepozměněné (Flores-Flores et al., 2015).

5.3 Metody detekce mykotoxinů

Produkce plísní produkujících mykotoxiny v krmivu je možno zjišťovat kultivačně. Jako selektivní půdy pro kultivaci plísní se dají využít např. sladinový agar, Sabouraudův agar či Czapek-Doxův agar. Detekce plísní v diagnostice mykotoxikóz má však pouze omezený význam, poněvadž přítomnost plísně v substrátu nutně nemusí znamenat jako kontaminaci mykotoxiny. K detekci mykotoxinů v potravinách či v krmivech se nejčastěji využívají chromatografické metody (Modrá a Svobodová, 2009).

5.3.1 Imunochemické metody

Imunochemické metody jsou dnes nejběžnějšími metodami pro rychlé kvalitativní určení i kvantitativní stanovení mykotoxinů. Největšími výhodami jsou relativní rychlost vyhodnocení, nízká nákladnost a snadná příprava nenáročných rutinních postupů (Opletal a Skřivanová 2010).

Nejčastěji používanou metodou je ELISA (Modrá a Svobodová, 2009). Tato metoda dovoluje jak kvalitativní, tak i kvantitativní stanovení toxinu a může dosahovat velmi vysokého prahu citlivosti. Podle požadavků uživatele na citlivost analýzy, mohou být výsledky odečítány pouhým okem na místě, nebo využitím spektrálních analyzátorů. Nevýhodou ELISA technik je snadná chybovost, jež je dána metodou probíhající v několika krocích (Opletal a Skřivanová 2010).

5.3.2 Chromatografické metody

Chromatografické metody jsou sice náročnější, než metody imunochemické a vyžadují složitější laboratorní vybavení, zato však dovolují podstatně vyšší citlivost a reprodukovatelnost stanovení. Tato druhá výhoda je dána nezávislostí na protilátce. Mezi nejběžnější chromatografické metody užívané pro detekci mykotoxinů patří chromatografie na tenké vrstvě (TLC) a vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC), (Opletal a Skřivanová 2010).

5.4 Metody prevence výskytu mykotoxinů

K infekci rostlin toxinogenními houbami dochází už na poli. Je možné ji minimalizovat agrotechnikou (spon, výsevek, osevni postup, přiměřená vláha, sklizeň v plné zralosti), integrovanou ochranou rostlin, odstraňováním suchých plevelů, volbou rezistentních odrůd (Kalač a Míka, 1997).

U silážované píce je důležité uplatnit zásady dobré výrobní praxe, která zahrnuje sklizeň píce v optimální silážní zralosti (28 až 35 % sušiny), zajištění dokonalé fermentace, rychlé naplnění siláže, vytěsnění kyslíku v průběhu konzervace (utužit konzervovanou hmotu), zakrytím silážního prostoru zamezit druhotnou kontaminaci (Suchý a Herzig, 2005).

Při sklizni obilovin je třeba omezit mechanické poškození, po sklizni vlhké zrno brzo usušit. Během skladování je třeba zabránit opětovnému zvlhčení (Kalač a Míka, 1997).

Zatímco na poli je obtížné účinně ovlivnit podmínky vnějšího prostředí pro růst plísní, po sklizni a během skladování existuje více prostředků k jejich úpravě. V zásadě je třeba růst plísní omezit (Kalač a Míka, 1997):

- poklesem relativní vlhkosti vzduchu pod 70 %,
- snížením vlhkosti zrna pod 14 %,
- snížením teploty pod - 2,2 °C,
- snížením obsahu kyslíku pod 0,5 %.

Za těchto podmínek většina plísní přestává růst. Podmínky pro rozvoj plísní ve skladovaném materiálu musí být průběžně monitorovány, aby se zabezpečilo, že se nezměnily (Kalač a Míka, 1997).

5.5 Metody dekontaminace mykotoxinů

Podle Suchého a Herziga (2005) lze na dekontaminaci pohlížet jako na proces řešící již vzniklou situaci, kdy jsou v krmivu mykotoxiny přítomny.

Protože jsou toxigenní mikromycety ubikvitární a byť je komplexní program jejich prevence sebeúčinnější, výskytu mykotoxinů nelze plně zabránit. I když lze zabránit dalšímu rozvoji infekce, mykotoxiny, které již byly jednou vytvořeny, v surovinách přetrvávají. Dostupné techniky dekontaminace se dají rozdělit do tří základních skupin. V závislosti na charakteru ošetření rozlišujeme metody fyzikální, chemické a biologické (Opletal a Skřivanová, 2010).

5.5.1 Fyzikální metody

Fyzikální metody dekontaminace krmných surovin jsou nejběžnějšími a nejjednoduššími technikami prevence mykotoxinů v krmných surovinách a krmivech (Opletal a Skřivanová, 2010).

5.5.1.1 Mechanické třídění

Základním opatřením musí být mechanické odstranění všech nečistot ve skladovacích prostorech a technologických linkách včetně zásobníků, čištění zrnin, odstranění malých, svařtělých zrn (Suchý a Herzig, 2005). Ke změnám v obsahu mykotoxinů v jednotlivých podílech potravin dochází také při mletí, případně mytí (Velíšek, 2002).

5.5.1.2 Inaktivace teplem

Tepelné ošetření kontaminovaných surovin způsobuje v řadě případů pokles hladin mykotoxinů. Zvláště termostabilní jsou rizikové aflatoxiny, k významnému snížení jejich obsahu dochází až při teplotách kolem 200 °C (Velíšek, 2002). Naopak termolabilní je citrinin, který je zahřátím relativně snadno rozrušen (Suchý a Herzig, 2005).

5.5.1.3 Extrakce rozpouštědly

Účinného odstranění aflatoxinů z olejninových šrotů lze dosáhnout pomocí různých rozpouštědel (aceton, etanol). Jde však o ekonomicky náročný proces, který navíc vede k ochuzení šrotů o řadu rozpustných živin a může mít vliv na jejich organoleptické vlastnosti (Velíšek, 2002).

5.5.1.4 Adsorpce

Adsorbenty přidané do krmiva vážou mykotoxiny v gastrointestinálním traktu, čímž snižují jejich biologickou dostupnost (Modrá a Svobodová, 2009). Pro odstranění aflatoxinů z mléka, smetany či podzemnicového oleje se osvědčil hydratovaný hlinitokřemičitan. Např. přídavek hydratovaného hlinitokřemičitanu vápenatého do krmiva dojnic snížil exkreci aflatoxinu M₁ o 24 až 44 % (Velíšek, 2002). Uvádí se, že přidáním hlinitokřemičitanů do krmiva v množství 0,5 % jsme schopni předejít možnému výskytu aflatoxikózy u zvířat. Na druhou stranu hlinitokřemičitanu nejsou příliš vhodné k adsorpci ochratoxinu A, T-2 toxinu nebo deoxynivalenolu. Dalšími používanými adsorbenty jsou například bentonit, zeolit či granulované aktivní uhlí (Modrá a Svobodová, 2009).

5.5.1.5 Ozařování

Modernějším přístupem ke kontrole mykotoxinů v krmivech je ozařování. Nejčastějším typem záření bývají paprsky gama. Bylo prokázáno významné snížení koncentrace u syntetických aflatoxinů po radiačním ozařování. Ozařování paprsky gama u kukuřice, pšenice a sóji vedlo k degradaci aflatoxinu B₁, deoxynivalenolu a zearalenonu. V současné době je ale vzhledem k velké náročnosti procesu ozařování využíváno spíše ke kontrole růstu původců kontaminace (Opletal a Skřivanová, 2010).

5.5.2 Chemické metody

Největší pozornost byla dosud věnována možnostem chemické degradace aflatoxinů. Nejvýznamnějším způsobem dekontaminace je reakce s amoniakem (Velíšek, 2002). Její nevýhodou je negativní ovlivnění sensorických vlastností ošetřovaných plodin či krmiv (působí zhnědnutí) a amoniak může způsobit korozi použitého zařízení (Modrá a Svobodová, 2009). Jako další degradační činidla pro dekontaminaci krmných surovin patří monomethylamin, močovina, roztoky chloridu vápenatého, hydrogenuhličitanu sodného, hydrogensířičitanu sodného a chloridu sodného. Pro dekontaminaci lze využít i oxidačních činidel, jako je peroxid vodíku nebo ozon. Tyto látky jsou schopné degradovat aflatoxiny a fumonisiny, čímž redukuje biologické dopady toxicity v krmivu. Účinek ozonu byl prokázán při dekontaminaci kukuřice, kdy po 92 hodinové expozici O₃ došlo k snížení obsahu aflatoxinu B₁ o 95 % (Opletal a Skřivanová, 2010).

Značnou nevýhodou chemických metod dekontaminace však zůstává vliv použitých látek na složení a strukturu surovin (Opletal a Skřivanová, 2010).

5.5.3 Biologické metody

Biologickou detoxikací se v praxi rozumí biotransformace či biodegradace účinkem enzymů, při níž vznikají metabolity, které v případě příjmu hospodářskými zvířaty buď toxicitu nevykazují nebo jsou méně toxické než výchozí toxin a z organismu mohou být snadno vyloučeny (Velíšek, 2002).

6 ZÁVĚR

Plísně se mohou vyskytovat prakticky všude tam, kde existuje organická hmota. V životním a pracovním prostředí člověka jsou přítomny v ovzduší, půdě, vodě, krmivu a potravinách. Přednostně napadají povrch džemů, marmelád, chleba, pečiva, případně skladované obilí, sóju nebo arašídů. Z konzervovaných krmiv jsou napadány hlavně sena a siláže, zejména siláže kukuřičné.

Optimální teplota pro růst plísní je 25 °C, optimální relativní vlhkost je od 80 % a optimální hodnota pH prostředí se u plísní pohybuje v rozmezí mírně kyselém až neutrálním.

Mykotoxiny jsou definovány jako toxické sekundární metabolity plísní, které mohou kontaminovat potraviny a krmiva. Dosud bylo identifikováno více než 300 mykotoxinů. Pouze 20 těchto sloučenin se vyskytuje v potravinách či krmivech, kde mohou způsobovat závažné onemocnění. Onemocnění vyvolaná sekundárními metabolity se nazývají mykotoxikózy, které často končí až smrtí lidí a hospodářských zvířat. Mykotoxiny u lidí způsobují např. ergotismus, Reyův syndrom, kardiální beri-beri nebo alimentární toxickou aleukii. U zvířat jsou to např. equinní leukoencefalomalacie (kůň) nebo porcinní pulmonální edém (prase).

Výskytu mykotoxinů nelze nikdy úplně zabránit, ale můžeme zabránit dalšímu rozvoji infekce pomocí dostupné techniky dekontaminace. Ty se rozdělují do tří skupin - metody fyzikální, chemické a biologické.

V současnosti jsou podle Nařízení komise (ES) č. 1881/2006 stanoveny maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. Jde zejména o aflatoxiny, ochratoxin A, patulin, deoxynivalenol, zearalenon, fumonisiny, T-2 a HT-2 toxin. Většina těchto mykotoxinů bývá detekována na obilovinách, a to hlavně na kukuřici, pšenici nebo ječmeni. Naopak patulin bývá nejvíce detekován v ovocných šťávách a ve výrobcích z jablek. Díky těmto limitům se onemocnění vyvolané mykotoxiny v dnešní době většinou nevyskytuje.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

ABD-ELGHANY, S. M. a SALLAM, K. I. Rapid determination of total aflatoxins and ochratoxins A in meat products by immuno-affinity fluorimetry. *Food Chemistry*. 2015, vol. 179, s. 297-307.

AMBROŽOVÁ, J. *Mikrobiologie v technologii vod*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 2004, 244 s.

ALONSO, V. A., PEREYRA, C. M., KELLER, L. A. M., DALCERO, A. M., ROSA, C. A. R., CHIACCHIERA, S. M. a CAVAGLIERI, L. R. Fungi and mycotoxins in silage: an overview. *Journal of Applied Microbiology*. 2013, vol. 115, s. 637-643.

ASHIQ, S., HUSSAIN, M. a AHMAD, B. Natural occurrence of mycotoxins in medicinal plants: A review. *Fungal Genetics and Biology*. 2014, vol. 66, s. 1-10.

BETINA, V. *Mykotoxíny: Chémia - biológia - ekológia*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1990, 284 s.

BOEVRE, M., GRANICZKOWSKA, K. a DE SAEGER, S. Metabolism of modified mycotoxins studied through in vitro and in vivo models: An overview. *Toxicology Letters*. 2015, vol. 233, s. 24-28.

CEMPÍRKOVÁ, R., LUKÁŠOVÁ J. a HEJLOVÁ Š. *Mikrobiologie potravin*. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 1997, 165 s.

COFFEY, R., CUMMINS, E. a WARD, S. Exposure assessment of mycotoxins in dairy milk. *Food Control*. 2009, vol. 20, s. 239-249.

FASSATIOVÁ, O. *Plísně a vláknité houby v technické mikrobiologii: (příručka k určování)*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1979, 211 [1] s.

FLORES-FLORES, M. E., LIZARRAGA, E., DE CERAIN, A. L. a GONZÁLEZ-PEÑAS, E. Presence of mycotoxins in animal milk: A review. *Food Control*. 2015, vol. 53, s. 163-176.

- IBÁÑEZ-VEA, M., GONZÁLEZ-PEÑAS, E., LIZARRAGA, E. a DE CERAIN, L. A. Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in barley from a northern region of Spain. *Food Chemistry*. 2012, vol. 132, s. 35-42.
- KALÁČ, P. The effects of silage feeding on some sensory and health attributes of cow's milk: A review. *Food Chemistry*. 2011, vol. 125, s. 307-317.
- KALÁČ, P. a MÍKA, V. *Přirozené škodlivé látky v rostlinných krmivech*. Vyd. 1. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1997, 317 s.
- KALHOTKA, L. *Mikromycety v prostředí člověka: vláknité mikromycety (plísňe) a kvasinky*. V Brně: Mendelova univerzita, 2014, 77 s.
- KALINA, T. a VÁŇA, J. *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. Vyd. 1. Praha: Karolinum, 2005, 606 s., 32 s. obr. příl.
- KUBÁTOVÁ, A. *Miniatlas mikroorganismů* [online]. 2001 [cit. 2015-03-02]. Dostupné z: <http://old.vscht.cz/obsah/fakulty/fpbt/ostatni/miniatlas/mikr.htm>
- KUBÁTOVÁ, A. *Atlas mikroskopických saprotrofních hub (Ascomycota)* [online]. 2006 [cit. 2015-04-07]. Dostupné z: <https://www.natur.cuni.cz/biologie/botanika/veda-a-vyzkum/atlas-mikroskopickyh-saprotrofnich-hub-ascomycota>.
- LABUDA, R., PARICH, A., BERTHILLER, F., a TANČINOVÁ, D. Incidence of trichothecenes and zearalenone in poultry feed mixtures from Slovakia. *International Journal of Food Microbiology*. 2005, vol. 105, s. 19-25.
- LAPTEV, G. Y., NOVIKOVA, N. I., IL'INA, L. A., YYLDYRYM, E. A., SOLDATOVA, V. V., NIKONOV, I. N., FILIPPOVA, V. A., BRAZHNIK, E. A. a SOKOLOVA, O. N. Dynamics of mycotoxin accumulation in silage during storage. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya*. 2014, s. 123-130.
- MALÍŘ, F. a OSTRÝ, V. *Vláknité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka*. 1. vyd. Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů v Brně, 2003, 349 s.

MARIN, S., RAMOS A. J., CANO-SANCHO G. a SANCHIS V. Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*. 2013, vol. 60, s. 218-237.

MARROQUÍN-CARDONA, A. G., JOHNSON N. M., PHILLIPS T. D. a HAYES. A. W. Mycotoxins in a changing global environment – A review. *Food and Chemical Toxicology*. 2014, vol. 69, s. 220-230.

MODRÁ, H. a SVOBODOVÁ, Z. *Speciální veterinární toxikologie: pro posluchače Fakulty veterinární hygieny a ekologie a posluchače Fakulty veterinárního lékařství*. V Tribunu EU vyd. 1. Brno: Tribun EU, 2009, 165 s.

MONBALIU, S., POUCKE, V. C., DETAVERNIER, C., DUMOULIN, F., VELDE, V. D. M., SCHOETERS, E., DYCK, V. S., AVERKIEVA, O., PETEGHEM, V. C. a SAEGER, D. S. Occurrence of mycotoxins in feed as analyzed by a multi-mycotoxin LC-MS/MS method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010, vol. 58, s. 66-71.

NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 1881/2006. *Maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách* [online]. 2006 [cit. 2015-03-20]. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:CS:PDF>

OPLETAL, L. a SKŘIVANOVÁ, V. *Přírodní látky a jejich biologická aktivita*. Vyd. 1. Praha: Karolinum, 2010, 653 s.

PAŘÍKOVÁ, J. *Jak likvidovat plísně*. 1. vyd. Praha: Grada, 2001, 86 s., [6] s. obr. příl.

RADA, V. *Siláž a zdraví zvířat* [online]. Praha, 2009 [cit. 2015-03-29]. Dostupné z: <http://www.vuzv.cz/sites/SilazRada.pdf>

RICHARD, J. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses—An overview. *International Journal of Food Microbiology*. 2007, vol. 119, s. 3-10.

ROCHA, M. E. B., FREIRE, F. D. C. O., MAIA, F. E. F., GUEDES, M. I. F., RONDINA, D. Mycotoxins and their effects on human and animal health. *Food Control*. 2014, vol. 36, s. 159-165.

SHERIF, S. O., SALAMA, E. E. a ABDEL-WAHHAB, A. M. Mycotoxins and child health: The need for health risk assessment. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2009, vol. 212, s. 347-368.

SIGNORINI, M. L., M. GAGGIOTTI, A. MOLINERI, C. A. CHIERICATTI, M. L., DE BASÍLICO, Z., J. C. BASÍLICO a M. PISANI. Exposure assessment of mycotoxins in cow's milk in Argentina. *Food and Chemical Toxicology*. 2012, vol. 50, s. 250-257.

SKLÁDANKA, J. *Výroba siláží z travní píče s důrazem na bezpečnostní parametry (mykotoxiny): uplatněná certifikovaná metodika*. Troubsko: Zemědělský výzkum, 2011, 62 s.

STREIT, E., SCHATZMAYR, G., TASSIS, P., TZIKA, E., MARIN, D., TARANU, I., TABUC, C., NICOLAU, A., APRODU, I., PUEL, O. a OSWALD, P. I. Current Situation of Mycotoxin Contamination and Co-occurrence in Animal Feed—Focus on Europe. *Toxins*. 2012, vol. 4, s. 788-809.

SUCHÝ, P. a HERZIG, I. Plísně a mykotoxiny, Prevence jejich vzniku a dekontaminace v krmivech. [online]. 2005 [cit. 2015-04-07]. Dostupné z: <http://www.vuzv.cz/sites/File/vybor/Hezig,%20Such%C3%BD-Plisne%20a%20mykotoxiny.pdf>

ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. Vyd. 3. [i.e. 4.], opr. a dopl., v nakl. Academia 1. vyd. [i.e. 2. vyd.]. Praha: Academia, 2008, 363 s.

ŠIMŮNEK, J. *Mykotoxiny* [online]. 2003 [cit. 2015-03-26]. Dostupné z: <http://www.med.muni.cz/prelek/MYKOTW/mtonem.htm>

TANČINOVÁ, D. *Úvod do potravinárskej mykológie: kľúč na identifikáciu potravinársky významných vláknitých mikroskopických húb*. 1. vyd. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2012, 286 s.

VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 3*. 2. upr. vyd. Tábor: OSSIS, 2002, 331 s.

VOTAVA, M. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003, 495 s.

VLKOVÁ, E., RADA, V. a KILLER, J. *Potravinářská mikrobiologie*. 2. vyd. V Praze: Česká zemědělská univerzita, 2009 168 s.

ZAIN, M. E. Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi Chemical Society*. 2011, vol. 15, s. 129-144.

ZEMAN, L. *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. 1. vyd. Praha: Profi Press, 2006, 360 s.

8 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Kolonie <i>Mucor plumbeus</i>	13
Obr. 2: <i>Mucor plumbeus</i>	13
Obr. 3: Kolonie <i>Rhizopus stolonifer</i>	14
Obr. 4: <i>Rhizopus stolonifer</i>	14
Obr. 5: Typy konidioforů u rodu <i>Penicillium</i>	16
Obr. 6: Kolonie <i>Penicillium chrysogenum</i>	17
Obr. 7: <i>Penicillium chrysogenum</i>	17
Obr. 8: Kolonie <i>Penicillium roqueforti</i>	18
Obr. 9: <i>Penicillium roqueforti</i>	18
Obr. 10: Kolonie <i>Aspergillus flavus</i>	19
Obr. 11: <i>Aspergillus flavus</i>	19
Obr. 12: Kolonie <i>Aspergillus niger</i>	20
Obr. 13: <i>Aspergillus niger</i>	20
Obr. 14: Kolonie <i>Cladosporium herbarum</i>	21
Obr. 15: <i>Cladosporium herbarum</i>	21
Obr. 16: Kolonie <i>Fusarium culmorum</i>	22
Obr. 17: <i>Fusarium culmorum</i>	22
Obr. 18: Kolonie <i>Alternaria alternata</i>	24
Obr. 19: <i>Alternaria alternata</i>	24
Obr. 20: Chemická struktura aflatoxinu B, aflatoxinu G a aflatoxinu M	26
Obr. 21: Chemická struktura patulinu	27
Obr. 22: Chemická struktura ochratoxinu A	28
Obr. 23: Chemická struktura zearalenonu	29
Obr. 24: Chemická struktura deoxynivalenolu	30
Obr. 25: Chemická struktura T-2 toxinu	31
Obr. 26: Chemická struktura fumonisinu B ₁	32

9 SEZNAM TABULEK

Tab. 1: Jednoduché shrnutí základních podmínek života plísní	11
Tab. 2: Faktory podporující produkci mykotoxinů během uskladnění	34
Tab. 3: Toxicita mykotoxinů	37